

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Eva Zábrowská

Vliv tlakového přetížení na vyvíjející se myokard
The effect of pressure overload on developing heart

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MVDr. Veronika Olejníčková, Ph.D.

Praha, 2019

Poděkování:

Chtěla bych poděkovat paní doktorce MVDr. Veronice Olejníčkové, Ph.D. za odborné vedení, připomínky k práci a ochotu při konzultacích. Také bych chtěla poděkovat rodině a přátelům za podporu a trpělivost.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala sama z uvedené literatury a na základě konzultací se svou školitelkou. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 9. 5. 2019

Abstrakt

Časné postnatální období hraje významnou roli ve vývoji srdce a kardiovaskulárního systému. Výrazný vzestup hemodynamické zátěže po narození vede k růstu a diferenciaci srdeční tkáně. Díky tomu myokard v neonatálním období vykazuje specifickou odpověď na patologické stimuly. V dospělém organismu dochází v důsledku tlakového přetížení k vývoji srdeční hypertrofie. V krátkém úseku po narození si však myokard ponechává proliferační schopnost z prenatálního vývoje, která může být dále navýšena v reakci na vyšší tlakovou zátěž. Cílem práce bude shrnout poznatky o vlivu tlakového přetížení na vyvíjející se myokard a zaměřit se na následný rozvoj specifických změn na úrovni srdce a kardiovaskulárního systému.

Klíčová slova: Neonatální myokard, Fibróza, Remodelace srdce, Hypertrofie myokardu,
Gap junction

Abstract

The early postnatal period plays important role in heart and cardiovascular system development. The substantial increase of hemodynamic load after birth results in rapid growth and differentiation of cardiac tissue. Therefore, neonatal myocardium is characterized by specific reaction to the pathological stimuli. In adult heart, the pressure overload results to cardiac hypertrophy development. However, for the short period after the birth, the cardiac tissue possesses higher proliferative activity which could be further increased as reaction to the pressure overload. The project aims to outline current knowledge about the effect of pressure overload on developing myocardium and focused to the specific changes of heart and cardiovascular system.

Key words: Neonatal myocardium, Fibrosis, Heart remodeling, Hypertrophic myocardium,
Gap junction

Seznam zkratek

ACE	angiotenzin konvertující enzym
AG2	angiotenzin II
AMI	akutní infarkt myokardu
BrdU	5-bromodeoxyuridin
Cx	konexin
CDK	cyklin-dependentní kinázy
DA	<i>ductus arteriosus</i>
DAPI	4,6-diamino-2-fenylindol
ECM	extracelulární matrix
EndMT	endotel-mezenchymální transformace
FO	<i>foramen ovale</i>
GJ	gap junctions
HIF	hypoxií indukovaný transkripční faktor
HW/BW	poměr hmotnosti srdce ku hmotnosti těla
ICAM-1	intracelulární adhezivní molekula
LK	levá komora
MLP	svalový LIM protein
NO	oxid dusnatý
PD	postnatální den
PGE2	prostaglandin E2
PK	pravá komora
PO ₂	parciální tlak kyslíku
RAS	renin angiotensinový systém
ROS	reaktivní formy kyslíku
SERCA	sarkoplazmatická Ca ²⁺ -ATPáza
SR	sarkoplazmatické retikulum
TGF-β	transformující růstový faktor β
VCAM-1	vaskulární buněčná adhezivní molekula
VEGF	vaskulární endoteliální růstový faktor
VVV	vrozené vývojové vady

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Vrozené srdeční vývojové vady	3
2.1	Aortální stenóza	4
2.2	Koarktace aorty	5
3	Tlakové přetížení srdce	7
3.1	Adaptivní změny v důsledku tlakového přetížení	7
3.1.1	Hypertrofie a její druhy	8
3.1.2	Fibrotizace	9
3.1.3	Vedení elektrického impulzu v srdci	11
3.1.4	Neovaskularizace	11
3.2	Maladaptivní změny myokardu při tlakovém přetížení	12
4	Kardiovaskulární změny v neonatálním období	15
4.1	Fetální krevní oběh	15
4.2	Hemodynamické změny při porodu a uzavírání fetálních spojek	16
4.3	Změny myokardu v neonatálním období	18
4.4	Mechanismus růstu kardiomyocytů v postnatálním období	19
4.5	Mechanismy terminální diferenciacce	24
5	Vliv tlakového přetížení na vývoj myokardu	25
5.1	Změny ve stěně levé komory	25
5.2	Změny ve vývoji cév	26
5.3	Změny v počtu a velikosti kardiomyocytů	27
5.4	Změny genové exprese	27
5.5	Negativní vliv tlakového přetížení na vývoj myokardu	28
6	Modely tlakového přetížení v neonatálním období	30
7	Závěr	31
8	Seznam literatury	32

1 Úvod

Srdce je orgán, jehož funkce je důležitá pro udržování životních funkcí. Choroby srdce představují ve vyspělých zemích jednu z hlavních příčin úmrtí. Mnoho z těchto chorob má původ v anomáliích, které vznikají při vývoji. Vrozené vývojové vady (VVV) srdce se v České republice vyskytnou asi u 5000 novorozenců za rok a pojí se s výraznou mortalitou. Včasná diagnostika a zvolení správné léčby hrají velkou roli, při šanci na přežití dítěte. Vhodná léčba je hlavní nejen pro okamžitou stabilizaci srdeční funkce, ale má také význam z dlouhodobého hlediska. Změny hemodynamiky, které mohou kvůli vrozeným defektům nastat, mají zásadní vliv na další vývoj srdeční stavby i funkce. Morfologické změny přetrvávají do dospělosti, kdy se mohou projevit. Nezanedbatelné procento úmrtí ve starším věku je spojené se srdečními chorobami, které buď nebyly v dětství diagnostikovány nebo vznikly kvůli poškození tkáně, ke kterému došlo při chirurgickém zákroku v dětství. Původně malá odchylka v hemodynamice se může v průběhu života stát velice závažnou komplikací.

Při dlouhodobém působení změněných tlakových poměrů se spouští v srdci proces remodelace, díky kterému srdce může pracovat i za zvýšených pracovních podmínek. Adaptivní změny, které při zvýšení zátěže nastanou, jsou závislé na původu zátěže a na vyspělosti myokardu. Tlakové přetížení může vznikat při VVV, jako je koarktace aorty nebo aortální stenóza, které se pojí s tlakovým přetížením levé komory.

Na takové přetížení reaguje srdce ztlustěním stěny komory. Jakým způsobem ke ztlustění dojde se odvíjí od vyspělosti srdce. Dospělý myokard na tlakové přetížení reaguje především hypertrofií a fibrotizací. Tyto adaptivní procesy však při dlouhodobém působení mohou přecházet v procesy maladaptivní, které mají za následek zhoršení srdeční činnosti. Hypertrofovaná komora se poté stává tužší a je ovlivněna její schopnost relaxace, což se projeví na plnění komor při diastole a může tak docházet k nižšímu srdečnímu výdeji. Kvůli fibrotizaci a změnám ve vedení elektrického vzruchu je navíc u hypertrofované komory zvýšené riziko vzniku arytmií.

Při vývoji myokardu jsou však zvyšující se tlakové podmínky přirozené. Postupné zvyšování tlaku v srdečních částech je nutné pro správný vývoj a iniciuje procesy jako je například kompaktace trabekul či se podílí na vzniku převodního srdečního systému. Vyvíjející se srdce tak musí být schopné na změnu tlakových podmínek dobře reagovat a růst adekvátně ke zvyšujícím se nárokům rostoucího plodu. Růst srdeční tkáně se ve fetálním období odehrává převážně procesem hyperplastického růstu, který je podmíněn schopností buněk proliferovat. Proliferační schopnost hraje roli i při nadměrném

zvyšování tlaku. Pokud dochází k tlakovému přetížení ve fetálním období, podobně jako v srdci dospělém, vedou adaptační procesy ke zbytnění stěny komory. Ve fetálním období se ale na rozdíl od dospělého myokardu ztlustění stěny komory děje převážně hyperplastickým růstem a je kompenzováno ve vyšší míře než v dospělosti.

Schopnost proliferovat však buňky ztrácí krátce po narození. Tím se mění i odpověď na tlakové přetížení, které poté spouští především hypertrofický růst, tedy odpověď podobnou dospělému myokardu. Zatím však není jasné, kdy přesně k přechodu mezi hyperplastickou a hypertrofickou odpovědí dochází u lidí. Studie na zvířecích modelech ukázaly, že se přechod odehrává na začátku neonatálního období a jeho průběh může probíhat v rámci jednoho dne. Informace o tomto předělu u lidí by byla velice významná pro pediatrie a dětské kardiology, kteří by mohli lépe naplánovat léčbu a případný chirurgický zákrok, který je u některých VVV nutný.

2 Vrozené srdeční vývojové vady

Srdeční vady představují až jednu třetinu ze všech VVV. Vyskytují se u 6 z 1000 narozených dětí (Xie et al., 2018). Studium a monitorování srdečních vad má důležitý klinický potenciál. Na světě je asi 50 milionů pacientů trpících nějakou z VVV srdce a jejich počet stále narůstá (Mutluer and Çeliker, 2018). Nemalý počet případů se odhalí až v dospělosti. V těchto případech jsou často tyto vady pozdě nebo nepřesně diagnostikovány, což komplikuje léčbu, která má v případě včasné diagnostiky slibné výsledky (Moodie, 2002). Přesto je mortalita u VVV stále vysoká jak v neonatálním období (Oster et al., 2013), tak v dospělosti (Naidu et al., 2017). Pravděpodobnost na přežití stoupá s včasným zjištěním vady a správném určení léčby. Včasná diagnostika a znalost patologie je klíčová pro průběh a prognózu vývojových vad. Proto je studium vzniku a postupu onemocnění srdce velice důležité a je mu v dnešní době věnováno velké množství pozornosti (Richmond and Wren, 2001).

Vznik VVV je podmíněn epigenetickými faktory a genetickými predispozicemi. Hemodynamika je hlavním epigenetickým faktorem ovlivňujícím ontogenezi srdce a přispívajícím ke vzniku VVV. Pokud při vývoji nejsou zachovány správné hemodynamické podmínky, dochází při ontogenezi k strukturálním a funkčním abnormalitám vedoucím k vzniku VVV (Midgett and Rugonyi, 2014).

Jedním z hlavních faktorů zásadně ovlivňujícím hemodynamické poměry v srdci je tlak. Správné tlakové podmínky v kardiovaskulárním systému jsou pro srdeční vývoj velice důležité (Reckova et al., 2003). Při ontogenezi se srdce musí vypořádávat se vzrůstajícími nároky, které jsou spojené také s navýšením tlaku (Leu et al., 2001). Adekvátní nárůst tlaku je klíčový pro vývoj hlavních srdečních struktur, jako je například převodní systém. Výrazné snížení tlaku vede k zastavení či dokonce k reverzi vývoje (Šaňková et al., 2010). Naopak dlouhotrvající tlakové přetížení může vést ke vzniku VVV a nevratné remodelaci stěny srdečních komor (Sugimoto et al., 2011).

V práci se budu zabývat vrozenými vývojovými vadami s tlakovým přetížením levé komory (LK). Pro přehled dalších vrozených srdečních vad odkazuji na odbornou literaturu.

2.1 Aortální stenóza

Aortální stenóza je porucha aortální chlopně, při které dochází k zúžení vstupního otvoru do aorty. Je to jedna z nejzávažnějších poruch chlopní. Může mít po dlouhé období asymptomatický průběh. Po jejím projevení je doba přežití u nejtěžších případů odhadována na 2-5 let. Léčba pacienta spočívá v chirurgické náhradě aortální chlopně (Želízko et al., 2016).

Aortální chlopeň je trojcípá s poloměsíčitými cípy, nacházející se mezi LK a aortou. Stenóza, tedy zúžení otvoru mezi cípy této chlopně, omezuje průtok krve z LK do aorty. Redukcí průměru se zvyšuje odpor, což zvyšuje hodnotu tlaku potřebného k vypuzení krve z komor (afterloadu) (Cary and Pearce, 2013). Zvýšený odpor, který je kladen na LK srdeční, vyústí ve zvýšení stresu v komoře a následnou hypertrofii. Při rozvinuté aortální stenóze je mortalita pacientů 50 % do dvou let (Rajput and Zeltser, 2018).

V Čechách se ročně narodí s touto srdeční vadou asi 40 dětí. Je to třetí nejčastěji se vyskytující vrozená vada a celkově tvoří 7,8 % ze všech vrozených srdečních vad (viz Graf č. 1). V prvním týdnu života je mortalita 4 % a více než půl roku se nedožije 6 % dětí. Do 15 let přežije 88,4 % (Šamánek and Voříšková, 1999).

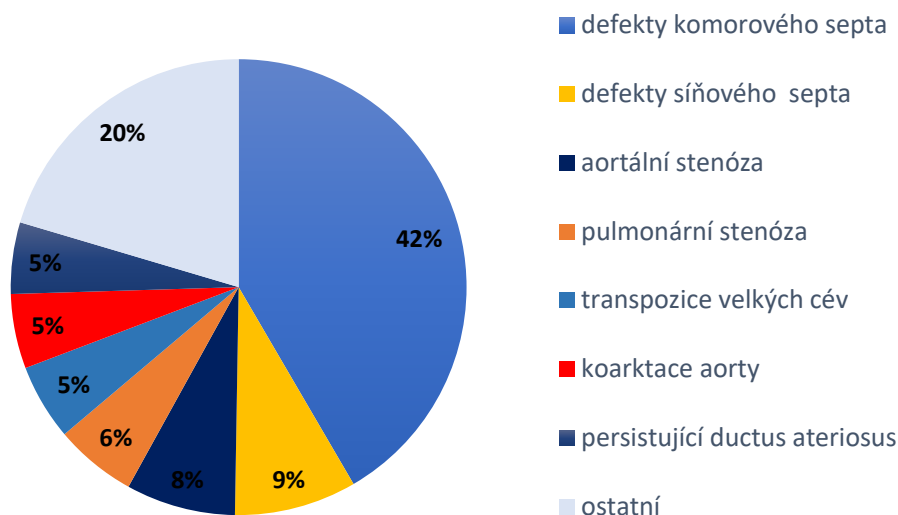
Příčina zúžení výtokové části LK může být bikuspidální aortální chlopeň. Zhruba 1-2 % dětí se rodí s touto vrozenou vadou, která se vyznačuje vyvinutými pouze dvěma cípy aortální chlopně. Při vývoji splývají dva cípy do jednoho a mění se tím hemodynamická zátěž vyvíjejícího se srdce. Postupem patologie může docházet ke kalcifikaci chlopně a defektům aorty, jako je koarktace či dilatace aorty (Rajput and Zeltser, 2018).

Případy, kdy se vážné aortální stenózy spojí se systolickou dysfunkcí LK a není zahájena adekvátní léčba, se pojí s poměrně vysokou mortalitou novorozenců. Chirurgická korekce je tedy nutná ještě v neonatálním období (Kallio et al., 2017).

Aortální stenóza je diagnostikovatelná již v prenatálním období, kdy její vznik vede ke špatnému hemodynamickému zatížení a pojí se k ní další patofyziologie vznikající při vývoji. Již v prvním trimestru může následná hyperplazie a zmenšení objemu LK vést k dilataci poškozené komory (Marantz and Grinenco, 2015) nebo může u závažných případů vyústit v syndrom hypoplastického levého srdce (Ošťádal and Vízek, 2003). To je stav, kdy LK přestává plnit svou funkci a oběh plodu je zcela závislý na funkci pravé komory (PK) a propojení plicního a tělního oběhu přes *ductus arteriosus* (DA) (Yabrodi and Mastropietro, 2017). V těchto případech je nutné provést chirurgický zákrok co nejdříve, a to již v těle matky. V současné době je toto téma cílem řady probíhajících studií. Moderní prenatální přístupy, které včas odstraní přetížení LK, mají pozitivní vliv

na zastavení progresu patofyziologií a vývoj srdce. I přes slibné výsledky je však mortalita plodů stále vysoká. Jsou tedy zapotřebí další výzkumy na toto téma (Jaeggi and Chaturvedi, 2018).

Vrozené vývojové vady v ČR v letech 1980-1990



Graf. č.1: Procentuální zastoupení VVV v ČR mezi roky 1980 a 1990 (Šamánek and Voříšková, 1999).

2.2 Koarktace aorty

Koarktace aorty je zúžení aorty. Často se vyskytuje za obloukem aorty v okolí DA, to je spojka mezi aortou a plicním kmenem, která v prenatálním období umožňuje vynechat plicní oběh a vede krev z plicnice přímo do aorty (Čihák, 2016). Přesné umístění i míra zúžení se v různých případech liší. Za vážné koarktace jsou považovány případy s rozdílem tlaků před a po zúžení nejméně o 20 mm Hg nebo s vytvořeným kolaterálním napojením (Thakkar et al., 2017). Podobně jako u aortální stenózy, i zde dochází ke zvětšení afterloadu (Allan et al., 1984) a vzniku tlakového přetížení, které vede k zvětšení PK. V závažných případech vyskytujících se v prenatálním období také k hypoplazii aortálního oblouku a vzniku dalších VVV (Ošťádal and Vízek, 2003).

Koarktací trpí v Čechách při narození přibližně 3 děti ročně. Koarktace tvoří 5,29 % z VVV, je tedy pátou nejčastěji se vyskytující srdeční vadou u nově narozených (viz Graf č. 1). Mortalita závisí na závažnosti konstriktce (Torok et al., 2015). Šamánek a Voříšková (1999) v desetileté studii, při které v ČR zaznamenali 266 případů vrozené koarktace aorty zjistili, že první týden přežilo 91,4 % dětí.

Úmrtnost poté stoupla a prvního roku života se dožilo 68 % dětí a do 15 let se dožilo 65 %. U neléčených pacientů je průměrný věk úmrtí 35 let (van den Hoven and Roos-Hesselink, 2017).

Až u poloviny pacientů se ve spojitosti s koarktací vyskytuje také bikuspidální aortální chlopeč a další vývojové poruchy srdce jako jsou defekty komorového septa, neuzavřený DA, hypoplazie oblouku aorty, stenózy aortálních chlopní a následně změny ve vaskularizaci mozku (Thakkar et al., 2017).

Mechanismus vzniku není doposud zcela objasněn. Je vysvětlován různými teoriemi. Některé vznik koarktace spojují s DA a tvrdí, že svalovina DA při vývoji obepíná aortální svalovinu. Při zavírání DA konstrikcí svaloviny, vznikne také zúžení aorty (Agrawal et al., 2018). Další teorie popisuje vznik koarktace jako důsledek špatné hemodynamiky plodu. Při vývoji se vyskytují zúžené části přirozeně. Po porodu a uzavření DA se však tyto části roztáhnou následkem zvýšeného tlaku. Pokud je tento tlak příliš malý, k tomuto roztažení nedochází (van den Hoven and Roos-Hesselink, 2017).

Vzhledem k ovlivnění vývoje cévního systému, je zapotřebí koarktaci diagnostikovat co nejdříve. A to v ideálním případě ještě před porodem, aby mohl porod probíhat ve specializovaných centrech. Prenatální diagnostika je však složitá, kvůli otevřenému DA, který snížený průchod krve maskuje a částečně kompenzuje. Pokud není koarktace zjištěna prenatálně, je zvýšené riziko morbidity a mortality v postnatálním období (Buyens et al., 2012). Avšak i v případech, kdy je koarktace včas zjištěna a operována, je u pacientů snížena doba přežívání. Zejména protože je u nich zvýšené riziko vzniku dalších kardiovaskulárních chorob spojených s hypertenzí, dysfunkcí LK, selhání ledvin a poškozením mozku. Vhodné je provést chirurgický zákrok co nejdříve. Ovšem operace v brzkém věku velmi často po nějaké době vyžadují reoperace. Toto téma je v současné době intenzivně zkoumáno. Vylepšují se jak metody diagnostiky, tak operativní přístupy. Přesto je před narozením odhalena méně než jedna třetina případů (Dijkema et al., 2017).

3 Tlakové přetížení srdce

Tlakové přetížení je jedna z forem mechanického zatížení srdce a vzniká, když je srdce nuceno pracovat při zvýšeném afterloadu (Tarazi and Levy, 1982). Velikost afterloadu je mimo jiné dána tlakem v aortě, systémovým tlakem a systémovou vaskulární rezistencí. Pokud se afterload zvýší a srdce musí vyvinout k vypuzení krve větší sílu než za normálních podmínek, vzniká ve stěnách komor nadměrné pnutí a může dojít k tlakovému přetížení (Sidebotham and Le Grice, 2007). Nejčastějšími příčinami vzniku tlakového přetížení LK jsou hypertenze, stenóza aortální chlopně, koarktace aorty a látky zvyšující krevní tlak (Frohlich and Susic, 2012).

3.1 Adaptivní změny v důsledku tlakového přetížení

Aby se srdce se zvětšenou zátěží vypořádalo, spouštějí se v organismu adaptační procesy, které pomáhají srdci zachovat jeho čerpací funkci. Tyto mechanismy mohou být krátkodobé, jako je například zvýšení tepové frekvence nebo zvětšení žilního návratu a tedy objemu krve v komorách na konci diastoly (preload) (Ošťádal and Vízek, 2003). Dlouhodobé tlakové přetížení však vede k remodelaci myokardu. Remodelace je soubor procesů, které mění strukturu srdeční stěny tak, aby byla schopná udržet stálé hemodynamické podmínky organismu (Lu et al., 2013). Zásadním procesem, který vede k zvýšení efektivity kontrakce, je ztlustění stěny myokardu. Tato reakce odpovídá fyzikálnímu principu, který popisuje Laplaceův zákon. Tento zákon popisuje vztah mezi tlakem a napětím stěny dutého předmětu (Ganong, 2005). Vysvětluje tak spojitost mezi napětím stěny (S), tlakem v komoře (P), poloměrem komory (r) a šíří myokardu (h). Tento vztah lze popsat jako: $S = P \times r / 2h$ (Ošťádal and Vízek, 2003).

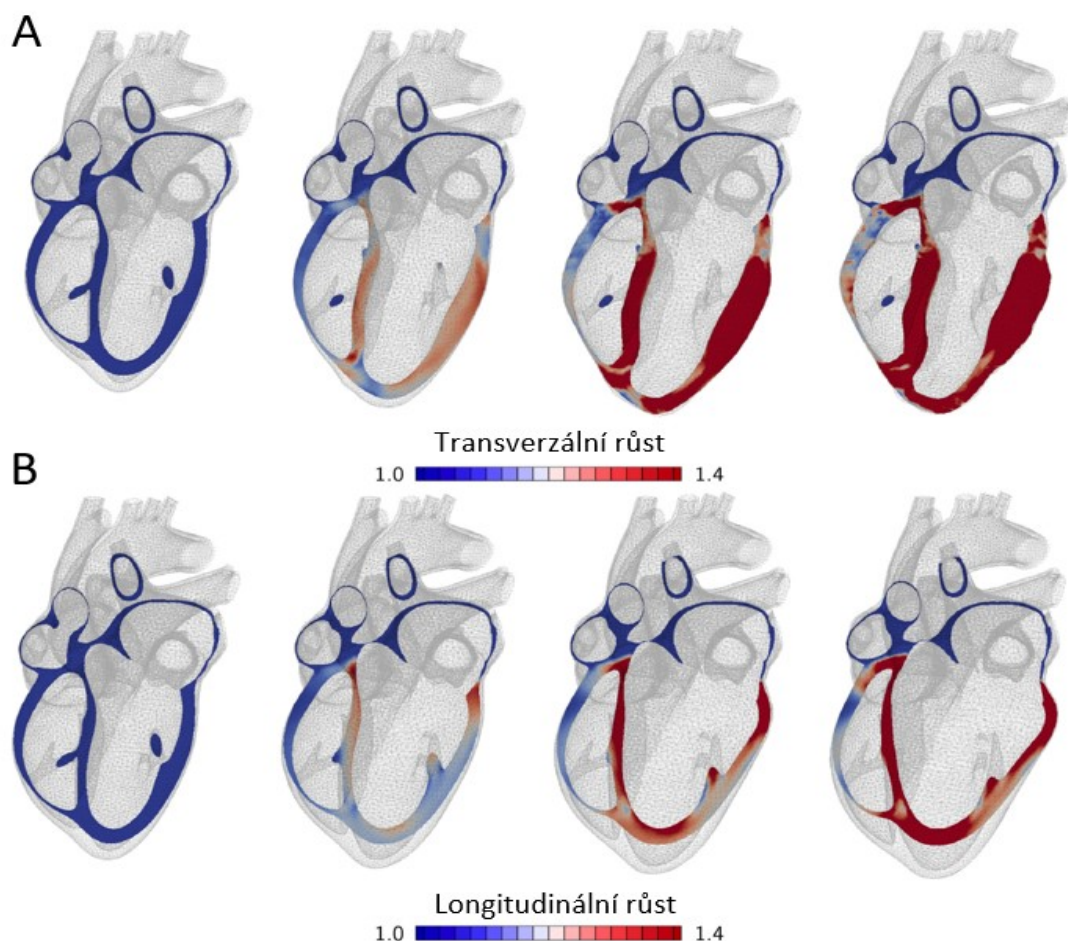
U dospělého myokardu vyvolává tlakové přetížení proces remodelace, při kterém dochází k ztlustování stěny hypertrofickým růstem tkáně a procesem fibrotizace. Tyto mechanismy jsou schopné vykompenzovat tlakové přetížení a zachovat srdeční funkci v normálních hodnotách (Mutlak et al., 2018). Při dlouhotrvajícím tlakovém přetížení je však kompenzační limit těchto procesů překročen. Stávají se z nich procesy maladaptivní, vedoucí k omezené srdeční funkci a u velmi závažných případů až k srdečnímu selhání (Izumiya Yasuhiro et al., 2006).

Při remodelaci dochází k abnormální genové expresi, v jejímž důsledku dochází ke změnám na molekulární, buněčné i intersticiální úrovni. Průběh remodelace určují hemodynamické změny a neurohumorální regulace (Cohn et al., 2000).

Změny při remodelaci po dlouhodobém tlakovém přetížení se projeví na celkové geometrii srdce. V souladu s Laplaceovým zákonem dochází podle míry přetížení k proporcionálnímu ztlustění stěny komory tak, aby se v komoře vyrovnalo systolické napětí (Ošťádal and Vízek, 2003). U dospělého myokardu je hypertrofie hlavním procesem, který umožňuje rozšířit stěnu komory (Norton et al., 2002).

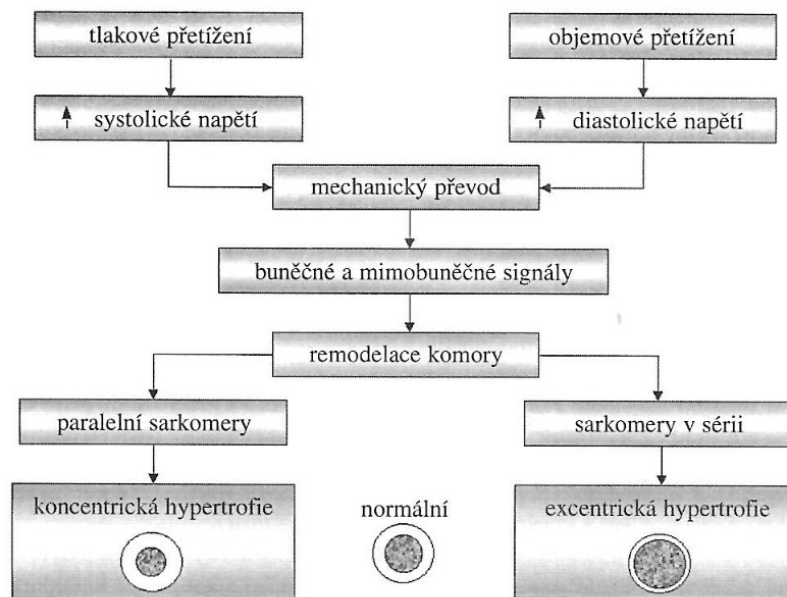
3.1.1 Hypertrofie a její druhy

Hypertrofie je růst tkáně pomocí zvětšování objemu jednotlivých buněk (Claycomb, 1977). Hlavním faktorem indukujícím vznik hypertrofie srdce je zvýšené pnutí mezi vlákny myokardu, které vede ke zvýšenému stresu v komoře. Toto napětí může být způsobeno objemovým či tlakovým přetížením srdce (Grossman et al., 1975). V závislosti na původu a typu přetížení srdce, se mohou vyskytovat různé formy hypertrofie (viz Obr. č. 1).



Obr. č. 1: Model vývoje relativní změny tvaru kardiomyocytů v LK při hypertrofické odpovědi na tlakové přetížení. Nahoře (A): ztlustění kardiomyocytů při koncentrické hypertrofii paralelním přidáváním sarkomer. Dole (B): Prodloužení kardiomyocytů při excentrické hypertrofii seriálním přidáváním sarkomer (B) (Genet et al., 2016).

Pro tlakové přetížení je typická koncentrická hypertrofie. Naopak u objemového přetížení se vyskytuje hypertrofie excentrická (viz. Obr. č. 2) (Messerli, 1982). Koncentrická hypertrofie se vyznačuje růstem myocytů především do šířky, čímž se zvyšuje šířka stěny myokardu, ale nedochází ke zvětšení průměru komory. Nové sarkomery zde vznikají vzhledem ke stávajícím vláknům myokardu paralelně. Naopak u excentrické dochází k vkládání nových sarkomer seriálně což vede k prodloužení vláken. To se na srdci projeví v podobě dilatace (Nadruz, 2015).



Obr. č. 2: Schéma reakce myokardu na mechanickou zátěž. Tlakové přetížení způsobuje především koncentrickou hypertrofii. Naopak pro objemové přetížení je typická hypertrofie excentrická (Ošťádal and Vízek, 2003).

3.1.2 Fibrotizace

Jedním z hlavních procesů remodelace myokardu je fibrotizace. Fibróza vzniká v srdci jako reparativní proces. Buď v případě apoptózy myocytů nebo bez apoptických stimulů. To je například odpověď na tlakové přetížení (González et al., 2018). Fibrotizace se týká především změn v extracelulárním matrix (ECM) srdeční tkáně. Je to nárůst počtu a objemu fibroblastů a kolagenních vláken ve svalovině (Lajiness and Conway, 2012). Tento proces mění architektoniku ECM mezi svalovými vlákny myokardu a ovlivňuje architektoniku srdeční svaloviny. ECM v myokardu je důležitý pro funkční propojení kardiomyocytů s fibroblasty a cévními buňkami především fibrilárním kolagenem (Gyöngyösi et al., 2017). Kolagen je hlavní složka srdeční ECM, většina kolagenních vláken je tvořena kolagenem typu 1, který tvoří silná vlákna. V srdci se vykytuje také kolagen typu 3, který tvoří asi 10 % kolagenních vláken ECM a má slabší, elastičtější vlákna. ECM také tvoří

glykosaminoglykany, glykoproteiny a proteoglykany (Frangogiannis, 2019). Při změně struktury ECM dochází k významným změnám ve funkci srdeční činnosti (Gyöngyösi et al., 2017).

Spouštění fibrotizace tkáně způsobuje více buněčných typů. Buď jsou to přímo fibroblasty produkující fibrotickou tkáň nebo tento proces mohou spustit nepřímo jiné buněčné typy produkující mediátory indukující fibrotizaci. To mohou být například makrofágy, vaskulární buňky nebo přímo myocyty (González et al., 2018). K fibrotizaci tkáně může dojít mnoha různými způsoby. Vždy však dochází k iniciaci, kdy se navýší koncentrace pro-fibrotických růstových faktorů a cytokinů. Ty se vážou na specifické receptory a spouští signální dráhy v buňce vedoucí k diferenciaci fibrocytů (Hansson and Hermansson, 2011). Také se spouštějí signály, které u buněk spouštějí impulzy k syntéze dalších růstových faktorů iniciujících sekreci fibrotických vláken, což vede ke vzniku pozitivní zpětné vazby a zesílení účinku pro-fibrotických signálů (Ma et al., 2018). Jedním z procesů spuštění fibrotizace je dráha aktivovaná transformujícím růstovým faktorem β (TGF- β), který po navázání na svůj receptor indukuje fosforylaci transkripčního faktoru Smad, konkrétně Smad2 a 3. Ty se translokují do jádra, kde spouští transkripci genů pro fibrotickou odpověď (Walton et al., 2017).

Také endotel hraje významnou roli ve vzniku fibrózy. Při zvýšeném tlaku byl detekován velký nárůst endoteliálních buněk exprimujících adhezní molekuly, jako jsou například ICAM-1 nebo VCAM-1, umožňující průnik makrofágů do tkáně (Hansson and Hermansson, 2011). Kume et al. (2017) označil tento proces za jeden z počátečních kroků remodelace. Makrofágy mohou sekrecí různých mediátorů regulovat kromě fibrózy (syntéza TGF- β) také zánětlivé procesy, remodelaci ECM a proces angiogeneze (Frangogiannis, 2019).

Důležitým faktorem při fibrotizaci je také oxidativní stres. Reaktivní formy kyslíku (ROS) mohou ovlivňovat míru i složení ECM přes regulaci syntézy a aktivity proteáz, které se účastní degradace a remodelace ECM (Siwik et al., 2001).

Původně se předpokládalo, že původ fibroblastů v srdci je pouze z embryonálních mesenchymálních buněk, které se v myokardu diferencují, a z fibroblastů již přítomných v srdci (Zeisberg et al., 2007). V dnešní době jsou za původce myofibriblastů považovány různé zdroje. K diferenciaci může například dojít z hematopoetických progenitorových buněk (Frangogiannis, 2019). Dalšími zdroji mohou být i buňky epiteliální. Ty mají schopnost se přeměnit na fibroblasty v procesu tzv. epiteliální-mezenchymové transformace (Wynn, 2008). Do tohoto procesu je jako podskupina zařazována i endotel-mezenchymální transformace (EndMT). To je proces, který se přirozeně vyskytuje i ve vývoji srdce a je například velmi důležitý pro formaci srdečních chlopní.

Je spouštěn především již dříve zmiňovaným TGF- β a dalším růstovým faktorem - kostním morfogenetickým proteinem (Gong et al., 2017).

3.1.3 Vedení elektrického impulsu v srdci

Správné vedení elektrických vzruchů je v srdci zásadní pro efektivní pumpování krve. K vedení elektrických vzruchů v srdci a regulaci správné aktivace srdce slouží převodní systém srdeční (Čihák, 2016). Při tlakovém přetížení nedochází pouze k hypertrofii pracovního myokardu, ale dochází také k hypertrofii buněk převodního systému. Dochází tedy k jejich zvětšení a dalším změnám spojeným s remodelací, jako je například změna genové exprese pro proteiny iontových kanálů či mezibuněčných spojů (Harris et al., 2012).

Zvětšení kardiomyocytů přidáváním sarkomer způsobí změny v poměru délky a šířky buněk. Tento poměr má vliv na změnu rychlosti vedení elektrického vzruchu. Při počáteční fázi tlakového přetížení tak může docházet k zrychlení vedení elektrických impulsů (Toure and Cabo, 2010).

Pro vedení vzruchů srdcem jsou významné spoje typu gap junctions (GJ) tvořené konexony. Konexony jsou kanály tvořené šesti transmembránovými podjednotkami. Tyto podjednotky se nazývají konexiny (Cx). Cx je více typů, jejich exprese závisí na typu srdečních buněk a liší se u různých živočišných druhů (Verheule and Kaese, 2013). Mění se také v ontogenezi, například pomalu vedoucí Cx45 se vyskytuje v srdci velmi hojně při vývoji. S postupem ontogeneze je však jeho exprese postupně snižována a v pracovním myokardu komor se vykytuje poměrně zřídka. V dospělosti je typický hlavně pro GJ buněk sinoatriálního a atrioventrikulárního uzlu (Yamada et al., 2003). Pro pracovní kardiomyocyty je typický především Cx43 (Jansen et al., 2010). Při hypertrofii indukované tlakovým přetížením byla popsána změna ve funkci GJ a expresi jednotlivých Cx. V rané části tlakového přetížení byl popsán nárůst v expresi Cx43. Zvýšený počet GJ vede k snížení intercelulárního odporu a zvyšuje rychlost vedení elektrického impulsu mezi buňkami (Kostin et al., 2004).

3.1.4 Neovaskularizace

Srdce je orgán s nejvyššími nároky na dodávku a spotřebu kyslíku a živin (Verdejo et al., 2012) a zároveň velmi malou arteriovenózní diferencí. Proto množství dodaného kyslíku není možné navýšit větší extrakcí. Jediný způsob, jak zvýšit okysličení, je vazodilatací koronárního řečiště (Ganong, 2005). Při regulaci krevního průtoku koronárním řečištěm má významnou funkci endotel a jeho schopnost sekretovat vazodilatační látky. Velmi důležitá je produkce oxidu dusnatého NO, což je hlavní regulátor vazodilatace (Rajapakse et al., 2015). Samotná vazodilatace však k okysličování rostoucí komory

nestačí a ve tkáni nastává hypoxie. Důsledkem nedostatečného okysličení jsou aktivované signální dráhy vedoucí k angiogenezi (Kayar and Weiss, 1992).

Hypoxie v buňkách je zaznamenána pomocí hypoxií indukovaného transkripčního faktoru (HIF). HIF má dvě podjednotky, α a β , které jsou v buňce konstitutivně syntetizovány (Zimna and Kurpisz, 2015). Za přítomnosti dostatečného množství kyslíku se na α podjednotku váže ubiquitin a je ihned degradována. Při hypoxii nedochází k degradaci α podjednotky, která se váže na β podjednotku. Společně tvoří aktivní formu HIF (Salceda and Caro, 1997). HIF poté indukuje expresi dalších genů, jako je například vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF). VEGF se váže na specifické transmembránové tyrozinkinázové receptory endotelových buněk a indukuje jejich proliferaci, migraci a diferenciaci. Začínají tak vznikat nové cévy. Také reguluje funkci metaloproteináz, které jsou důležité pro degradaci ECM a vytvoření prostoru pro migrující buňky (Friebs et al., 2006). VEGF je důležitý jak pro angiogenezi, tedy nárůst stávajících cév, tak pro vaskulogenezi, tedy vznik cév *de novo*. Vaskulogeneze je zásadní při vývoji srdce a koronárního řečiště (Bellomo Daniela et al., 2000).

3.2 Maladaptivní změny myokardu při tlakovém přetížení

Tlakové přetížení spouští v myokardu adaptivní dráhy, které vedou k jeho kompenzaci. Tyto kompenzační dráhy však mají určité limity. Pokud je tlakové přetížení příliš velké nebo přetrvává dlouhodobě, může dojít k překročení těchto limitů. Změny, které poté nastávají, přechází z adaptivních na maladaptivní a dochází k narušení srdeční činnosti (Anversa et al., 1991).

Funkce srdce se tak zhoršuje kvůli přetrvávajícím dějům hypertrofie, dilatace, fibrotizace a apoptózy myocytů (Mann, 2003). Kvůli nadměrné hypertrofii komory se sníží účinnost čerpací funkce srdce. Excentrická hypertrofie narušuje především systolu a schopnost srdce pumpovat krev dostatečnou silou do oběhu. Nadměrné ztlustění stěny u koncentrické hypertrofie ovlivňuje její plasticitu (Genet et al., 2016). Narušení relaxace je připisováno především abnormálnímu nárůstu fibrotické tkáně, ke kterému dochází především okolo cév, v oblastech perimysia a endomysia (González et al., 2018). Zvýšená tuhost komory v důsledku rozvoje fibrózy ovlivňuje srdeční diastolu, v pasivní části diastoly nedochází k dostatečné relaxaci svalu, a tedy narušenému plnění komory. Tyto defekty poté mohou vyústit ve snížení srdečního výdeje, a tedy ve snížení krevního tlaku (Detterich, 2017).

Pokud klesne krevní tlak, aktivuje se v ledvinách renin angiotensinový systém (RAS). Buňky v ledvinách začnou produkovat renin do krevního oběhu. Renin poté reaguje s angiotensinogenem, ze kterého odštěpí část aminokyselin. Tím vzniká molekula angiotenzinu I, ze kterého po odštěpení

dalších aminokyselin angiotenzin konvertujícím enzymem (ACE) vzniká angiotenzin II (AG2) (Lorell, 1995). AG2 vzniká také v srdci při remodelaci, kdy buňky makrofágů mohou produkovat renin a ACE (Weber et al., 2013). Vznikající AG2 poté může v srdci spouštět proces fibrotizace přímým působením na fibroblasty přes specifické AT1 receptory nebo přes TGF- β (Frangogiannis, 2019). AG2, který se krevním oběhem dostane zpět do ledvin, spouští v ledvinách syntézu aldosteronu. To způsobí zvýšení zpětné resorpce sodíku a vody. Díky tomu se zvýší objem extracelulární tekutiny, která vede k zvýšení preloadu v srdci. Aktivace RAS také způsobuje vazokonstrikci a zvýšení krevního tlaku, čímž se zvýší i afterload (Sayer and Bhat, 2014). Přetrvávající aktivovaný RAS tak způsobuje tlakové i objemové přetížení srdce, které může vést k zesílení hypertrofie a následně k dilataci srdce. U dilatovaného srdce vzroste poloměr komory. Podle Laplaceova zákona tedy musí srdce vyvinout silnější kontrakci pro vypuzení krve z komor (Ošťádal and Vízek, 2003). Tím se zvýší spotřeba kyslíku i živin v srdci, které je i za fyziologických podmínek velmi náročné na jejich dodávání (Rodriguez-Porcel et al., 2006). Aby srdce zvýšilo dodání kyslíku do stěny komory, dochází k dilataci koronárních cév. Trvale zvýšený tlak v koronárních cévách však může narušit vrstvu endotelu. Tím je narušena schopnost endotelu syntetizovat vazoaktivní látky (Godo and Shimokawa, 2017). Zásadní je porucha produkce NO. Snížením jeho produkce tak může docházet k nedostatečnému okysličení tkáně (Rajapakse et al., 2015). Hypoxie vzniká také kvůli narůstajícímu objemu hypertrofované tkáně, který je sice doprovázen neovaskularizací, vznik nových cév se však často neděje proporčně ke zvětšující se stěně komory. Narůstá tak prostor mezi jednotlivými kapilárami a difuzní vzdálenost, což vede k pomalejšímu dodávání kyslíku do mitochondrií (Kayar and Weiss, 1992). Nedostatek kyslíku může za dlouhodobých podmínek vyústit ve snížení oxidace mastných kyselin, z kterých se tvoří v myokardu 70 % ATP. Také dojde ke snížení produkce ATP pomocí aerobní glykolýzy a navýšení produkce ATP pomocí anaerobní glykolýzy. Tím se v reakci na tlakové přetížení změní i energetika buňky, může se snížit produkce ATP a narušit se kontraktilní funkce srdce (Doenst et al., 2008).

Pro kontraktilitu jsou významné také změny ve strukturách kontraktilních proteinů a metabolismu vápníku, který hraje roli při kontrakci i relaxaci svalu (Dhalla et al., 1996). Pro relaxaci svalu je zásadní vychytávání Ca^{2+} po kontrakci z cytoplazmy. Většina Ca^{2+} je z cytoplazmy přesouvána do sarkoplazmatického retikula (SR) pomocí sarkoplazmatických Ca^{2+} -ATPáz (SERCA), které jsou u lidí zodpovědné za odčerpání 70 % Ca^{2+} z cytoplazmy (Hendrych et al., 2016). Při tlakovém přetížení dochází ke snížení jejich exprese (Periasamy and Kalyanasundaram, 2007) a nahromadění Ca^{2+} v cytoplasmě. To spolu s rozvojem fibrózy přispívá k narušení relaxační schopnosti komory. Zvýšení koncentrace cytozolického Ca^{2+} může také spustit Ca^{2+} indukované uvolňování Ca^{2+} ze SR přes

ryanodinové receptory. Spontánní uvolňování Ca^{2+} ze SR poté může vyvolat kontrakci a vést k srdečním arytmiím (Duan, 2010).

Poruchy vedení vzruchu v tlakově přetíženém myokardu jsou způsobené mimo jiné změnami v GJ. Po počátečním nárůstu exprese Cx v hypertrofovaném myokardu, dochází ke snížení jejich exprese (Kostin et al., 2004). Také dochází ke změně v jejich rozložení na membráně kardiomyocytů. Na následné disperzi vedení impulzů se podílí přerozdělení Cx z interkalárních disků po obvodu buňky a porušení buněčného propojení. Uvedené změny jsou spolu s fibrózou odpovědné za vznik proarytmogenního substrátu v remodelovaném myokardu (Boulaksil et al., 2010).

K maladaptaci přispívá také ovlivněné energetické zásobování buněk. Ke správné srdeční činnosti je potřeba velké množství energie. Za den spotřebuje srdce asi 5 kg ATP (Doenst et al., 2008). Proto je u kardiomyocytů rozsáhlá síť mitochondrií, které vysoké energetické nároky pokrývají (Verdejo et al., 2012). Také jejich aktivita je závislá na metabolismu Ca^{2+} . Při fyziologických podmínkách vstupuje Ca^{2+} do mitochondrií, kde stimuluje tvorbu ATP za spotřeby kyslíku a vzniku reaktivních forem kyslíku (ROS) (Hendrych et al., 2016). ROS vznikají v mitochondriích nejvíce v komplexech I a III dýchacího řetězce, kde z kyslíku po navázání elektronu vzniká superoxid (Murphy, 2009). Při nadměrném množství Ca^{2+} v cytoplazmě, kdy proniká do mitochondrií nadměrné množství Ca^{2+} , se rapidně zvýší spotřeba kyslíku a vznik ROS (Hendrych et al., 2016). Nahromadění ROS společně s vysokou koncentrací Ca^{2+} může vést k aktivaci mitochondriálních permeabilních tranzitních pórů. Následně dojde k narušení membránového potenciálu a vylití cytochromu c, který indukuje apoptózu (Maack and O'Rourke, 2007).

Všechny tyto změny srdeční struktury i funkce mohou vést k arytmiím a náhlému srdečnímu selhání. Srdeční selhání je stav, kdy srdce není schopno plnit své čerpací funkce a ve tkáni se rozvíjí hypoxie. Tím dojde k ovlivnění funkce mnoha orgánů v těle, které na sebe vzájemně působí díky propojení parakrinními, endokrinními i nervovými cestami. V organismu tak nastává mnoho změn podmíněných srdečním selháváním (Salman, 2015). Srdeční selhání je tedy komplexní stav vyznačující se vysokou mortalitou, nastávající z více příčin (Giordano, 2005).

4 Kardiovaskulární změny v neonatální období

Neonatální období u organismů popisuje časovou periodu následující po porodu. U lidí je jako neonatální perioda označováno období prvního měsíce života (Gomella, 1999). Dochází v něm k velké řadě změn, které jsou nutné k adaptaci na život mimo tělo matky (Pathirana et al., 2016). Pro vývoj myokardu je toto období zásadní, protože v něm dochází k významným změnám. Ty jsou spojené s oddělením krevního oběhu plodu od placenty (Assali et al., 1962). Fetální oběh je specifický a zásadně se liší od postnatálního. Je důležité znát fyziologické procesy, které se k němu pojí, protože zásadně ovlivňují správnou funkci i strukturu kardiovaskulárního systému (Vrancken et al., 2018).

4.1 Fetální krevní oběh

Oběh plodu a dospělého člověka se výrazně liší. Hlavním rozdílem je placentární krevní oběh a částečné vynechání plic z krevního oběhu (Čihák, 2016). Okysličená krev je od placenty vedena pupečnickovou žílou k játrům (*v. umbilicalis*). Část krve játra obchází pomocí *ductus venosus* a napojuje se přímo na dolní dutou žílu. Je tak zajištěn přívod krve s největší saturací kyslíkem do koronárního řečiště a do mozku. Po vyústění do pravé síně protéká většina krve po tlakovém gradientu do levé síně přes *foramen ovale* (FO) a následně přes komoru do aorty (Kiserud et al., 1994). Menší část krve se dostává do PK, odkud je vypuzována do plicnice. Díky trvale kontrahovaným plicním cévám je v plicnici vyšší tlak než v aortě a většina krve z plicnice tedy protéká skrz DA do aorty a pokračuje do tělního krevního oběhu (Ganong, 2005). DA se nachází za odstupem prvního cévního kmene z aorty, který okysličenou krví zásobuje vyvíjející se mozek. Odkysličená krev je do placenty vedena párovými pupečnickovými arteriemi (*aa. umbilicales*) (viz. Obr. č. 3) (Čihák, 2016).

Protože plíce ještě neplní funkci okysličování krve, není potřeba, aby byl funkční malý krevní oběh (Ošťádal and Vízek, 2003). Proto jsou ve fetálním období plicní cévy udržovány pomocí prostaglandinů ve stavu trvalé konstrikce. Do plic proudí pouze přibližně 10 % z celkového objemu krve plodu (Ganong, 2005). Tento objem stačí k zajištění kyslíku a zásoby živin pro vyvíjející se plíce. Zbylý objem je přes FO a DA přesměrován do velkého plicního oběhu (viz Obr. č. 3). Dochází tedy k míšení okysličené krve přicházející od placenty a odkysličené krve z vyvíjejících se periferních tkání (Mielke and Benda, 2001).

4.2 Hemodynamické změny při porodu a uzavírání fetálních spojek

K nejvýznamnějším transformacím oběhového systému během vývoje dochází po porodu. Při narození a v neonatální fázi dochází k výrazným změnám hemodynamických poměrů. Procesy spojené s vyrovnáváním tlaků a přestavbou kardiovaskulární soustavy jsou velice důležité pro přežití novorozence a jeho další vývoj (Ghanayem and Gordon, 2001). Tlakové poměry se rychle mění a v organismu musí docházet k adekvátní reakci, pokud tomu tak není, zvyšuje se riziko vzniku VVV (Rudolph, 1970).

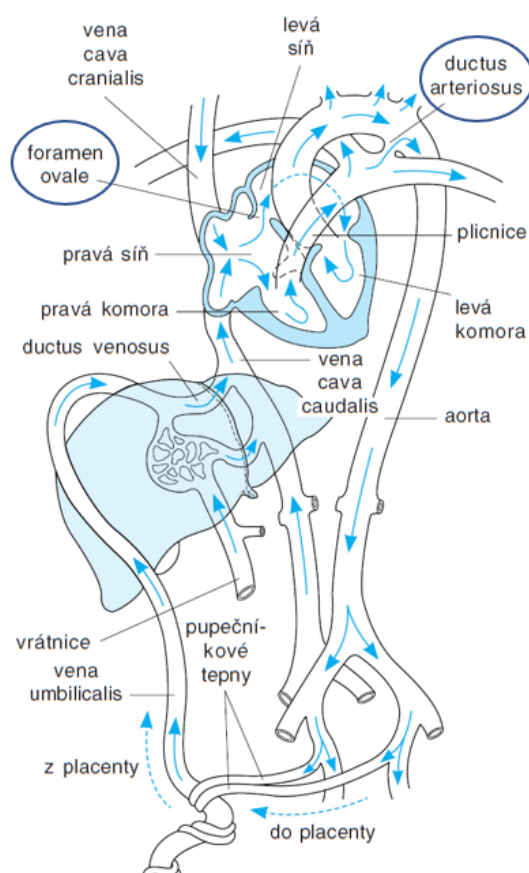
Během prvních nádechů novorozence dochází k expanzi plic a dilataci plicních cév. K plicnímu roztažení výrazně přispívá vznik negativního intrapleurálního tlaku (až -50 mm Hg) (Ganong, 2005). Dilatací dosud kontrahovaných plicních cév se prudce snižuje cévní odpor. Tím se snižuje tlak v plicnici (Assali et al., 1962). Systolický tlak v plicnici klesá do 42 hodin přibližně o 30 mm Hg na hodnoty pohybující se okolo 45 mm Hg a poté postupně dále klesá k hodnotám okolo 30 mm Hg, které se vyskytují u dospělých (Kang et al., 2016). Naopak v aortě dojde k zvýšení tlaku. To se děje díky zvýšení periferního odporu. Celkový odpor cévního řečiště stoupá, protože došlo k oddělení placentárního obvodu a tím se zmenšila velikost krevního oběhu. Tlak v aortě následně převýší tlak v plicnici (Ganong, 2005).

Před porodem zásobují velký krevní oběh obě komory. Jejich výdej je počítán dohromady a činí asi 450 ml/kg/min. Systolický tlak komor se pohybuje okolo 60 mm Hg s lehce vyššími hodnotami v PK, kvůli zúžení u DA. Stejně tak je v pravé síni trochu vyšší tlak a pohybuje se okolo 3 mm Hg (Ošťádal and Vízek, 2003). Po oddělení krevních oběhů vzniká asymetrické zatížení pravé a levé části srdce. Zvýšením plicního žilního návratu se zvýší krevní objem na konci diastoly LK následovaný zvýšením systolického tlaku (Rudolph, 1970).

V důsledku uvedených tlakových změn v časném postnatálním období dochází k uzavírání fetálních spojek mezi plicním a systémovým oběhem (Gomella, 1999). DA se za normálních podmínek funkčně uzavírá už po 10-15 hodinách po porodu (Rudolph, 1970). Prudký pokles tlaku v plicnici společně se zvýšením parciálního tlaku kyslíku (pO_2) a snížením syntézy prostaglandinu E2 (PGE2) způsobí konstriktci DA a jeho anatomické uzavření (Gournay, 2011). Toto anatomické uzavření je založeno na citlivosti DA k pO_2 v krvi. Heymann a Rudolph (1975) dokázali, že přítomnost zvýšeného pO_2 v oběhu je jedním z hlavních mechanismů konstriktce DA. Krom zvýšeného pO_2 je zavírání DA zajištěno také sníženou syntézou dilatačních látek, jako je například PGE2, které před porodem udržují

DA otevřený. Po anatomickém uzavření nastává hypoxie hladké svaloviny a její nahrazení vazivovou tkání, čímž dojde k permanentnímu uzavření této spojky (Coceani and Baragatti, 2012).

Při vývoji ale mohou nastat různé patologie a k uzavření DA nemusí dojít. Perzistující DA je vzácná, ale vážná komplikace. Vyskytuje se zhruba u 1 z 2000 narozených a míra mortality v dětském věku může být až 30 % (Dice and Bhatia, 2007). Kvůli přetížení LK, které vyvolává přetrvávající zkrat mezi plicnicí a aortou dochází k zvětšení objemu v plicním oběhu. Následné objemové přetížení levé strany srdce vyvolává hypertrofii a může se přenést na pravou stranu srdce. Je tedy velké riziko vzniku levo-pravého srdečního selhání (Ošťádal and Vízek, 2003).



Obr. č. 3: Schéma krevního oběhu plodu s vyznačeným *ductus arteriosus* a *foramen ovale* (Ganong, 2005).

Další spojkou, která se musí po porodu uzavřít, je FO. Síňová přepážka je tvořena dvěma septy, které vznikají v ontogenezi postupně. V obou septech se postupně vyvíjejí otvory, kterými může protékat krev (Anderson et al., 2002). Nárůst tlaku, zvýšeným objemem krve vracující se z plic zapříčiní v levé síni přitisknutí obou sept k sobě, což způsobí uzavření FO a zastaví proudění mezi

síněmi (Rudolph, 1970). Následná změna genové exprese v oblasti FO s aktivací EndMT procesu vede k fibrotizaci oblasti a permanentnímu uzavření FO (Elliott et al., 2014).

Pokud nedojde k uzavření FO, nejsou bezprostřední následky většinou kritické. Perzistující FO se vyskytuje asi u 25 % dospělých. Je však spojováno s migrénami a vyšším rizikem mrtvice (Kanaganayagam and Malik, 2012). Na závažnosti může perzistentní FO nabývat až při vyšším zatížení srdce u různých patologiích či těhotenství (Ganong, 2005).

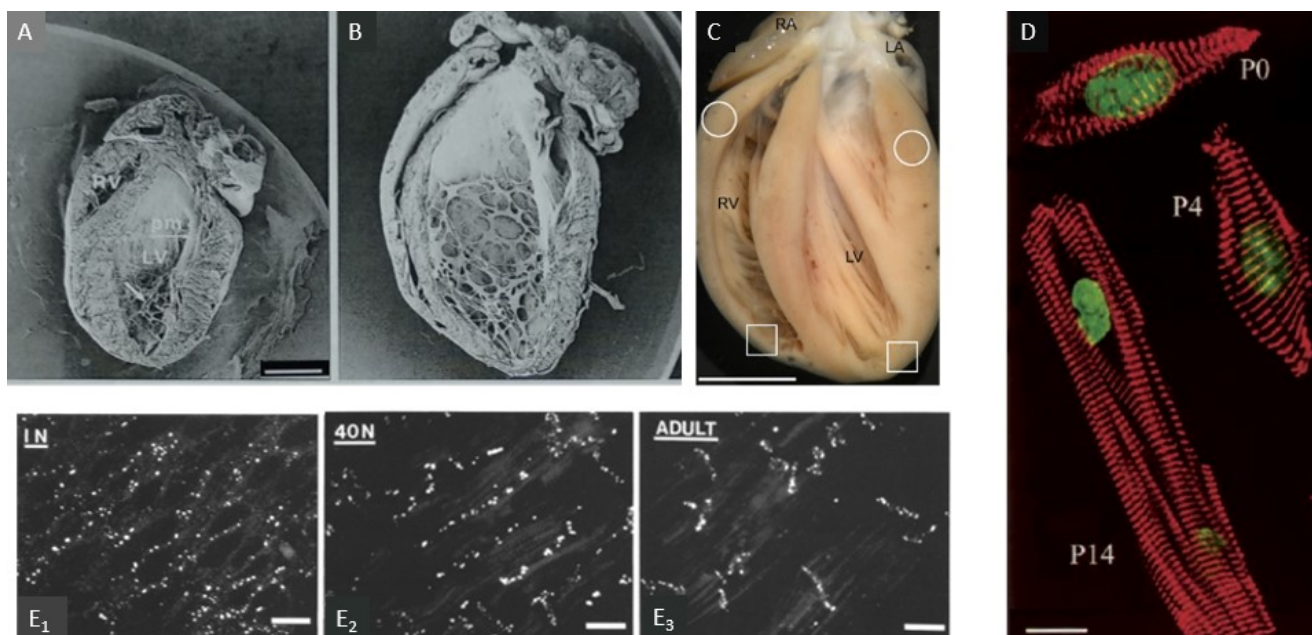
4.3 Změny myokardu v neonatálním období

Postupný nárůst srdeční aktivity již během prenatálního vývoje se odráží také na hodnotách krevního tlaku (Nuntnarumit et al., 1999). Před narozením byl u lidských plodů v 26.-27. týdnu naměřen arteriální tlak pohybující se v rozmezí 35–70 mm Hg a byl zaznamenán lineární nárůst v gestačním období (Johnson et al., 2000). Po narození jsou hodnoty krevního tlaku závislé na věku a váze dítěte. Největší nárůst hodnot krevního tlaku nastává v prvních 5 dnech po porodu v důsledku odpojení placentárního oběhu (Nuntnarumit et al., 1999). V tomto období nastává velmi progresivní vzestup, kdy se systolický tlak zvyšuje asi o 2,5 mm Hg a diastolický přibližně o 1,8 mm Hg za den. Poté se nárůst zpomaluje na přírůstky okolo 0,25 mm Hg systolického a 0,5 mm Hg diastolického tlaku za den (Zubrow et al., 1995). Tyto poznatky odpovídají studii Zhou et al. (2003), ve které byla sledována řada parametrů srdeční aktivity (např. tepová frekvence nebo plnění komor při diastole) myší od gestačního až po postnatální období. Na konci nitroděložního vývoje a v rané postnatální fázi docházelo k výraznému posunu srdeční funkce při diastole směrem k funkci maturovanějšího myokardu (Zhou et al., 2003).

Nárůst systémového tlaku vede k vyšším nárokům na výdej LK. Kompenzačně dochází k růstu srdeční tkáně procesem hyperplazie a následné hypertrofie. Zároveň je v perinatálním období dokončována kompaktizace trabekul (viz Obr. č. 4 horní panel) a specializace a maturace terminální části komorového převodního systému srdečního (van Eif et al., 2018). V souvislosti s postupným nárůstem systémového tlaku dochází k maturaci myokardu zahrnující redistribuci Cx43, který se přestává exprimovat po obvodu buňky a začíná se exprimovat převážně v oblastech interkalárních disků (viz Obr. č. 4 dolní panel) (Gourdie et al., 1992). Mění se také tvarové poměry kardiomyocytů. Buňky se začínají prodlužovat a z malých vřetenovitých buněk se postupnou elongací a přidáváním sarkomer v longitudinálním směru stávají buňky cylindrické (viz. Obr. č. 4 vpravo) (Leu et al., 2001). Tyto změny slouží k lepšímu vyrovnání s narůstajícím tlakem. Perinatální období tak má významný vliv na strukturu a funkci dospělého myokardu (Sedmera et al., 1999).

4.4 Mechanismus růstu kardiomyocytů v postnatálním období

Dospělý myokard má schopnost růstu pouze zmnožením objemu kardiomyocytů (hypertrofie) (Vivien et al., 2016). Naopak v perinatálním období si myokard po jistou dobu ponechává schopnost růst i buněčným dělením (hyperplazie). K přechodu hyperplastického v hypertrofický růst dochází brzy v neonatálním období (Leu et al., 2001). Kardiomyocyty při něm dokončí svoji terminální diferenciaci. Tím ztrácí schopnost proliferace a srdce poté může růst pouze hypertrofií (Li et al., 1996).



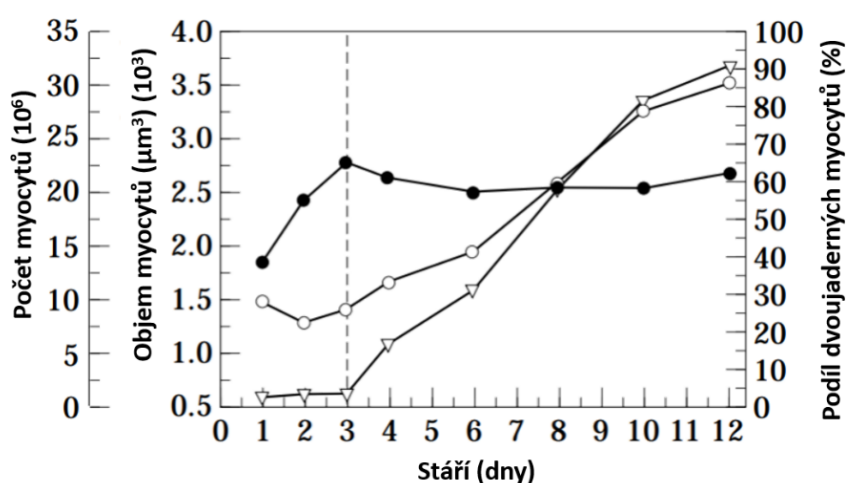
Obr. č. 4: Levý horní panel: Vývoj morfologie LK v postnatálním období u potkana. Postupně změny ve struktuře LK na PD 2 (A), PD 10 (B); měřítko 1 mm (Sedmera et al., 2003) a srdci ve stáří 3 měsíců (C); měřítko 5 mm (Eckhardt et al., 2018). Levý dolní panel (E₁₋₃): Postupná maturace neonatální distribuce Cx43 rovnoměrně kolem kardiomyocytu v dospělé uspořádání, kde Cx43 je lokalizován do mezibuněčných spojů; měřítko 20 μm (Gourdie et al., 1992). Pravý panel (D): Změny ve tvaru kardiomyocytů, postupné zvětšování a prodlužování původně vřeténkovitých buněk (P0), viditelné na PD 4 (P4) a terminálně diferencovaný kardiomyocyt cylindrického tvaru a dvěma jádry (P14); měřítko 10 μm (Leu et al., 2001).

LA, levá síň LV, levá komora; pm, papilární sval; RA, pravá síň; RV, pravá komora; IN, 1. neonatální den; 40 N, 40. neonatální den; ADULT, dospělý; P0, první postnatální den; P4, PD 4; P14, PD 14.

Mechanismem růstu kardiomyocytů v postnatálním období se zabývali Clubb a Bishop (1984). Ve své studii pozorovali dělení buněk a syntézu DNA ve vyvíjejícím se potkaním srdci. Přechod poté popsali jako třífázový. Nejprve ve svých experimentech pozorovali období, kdy srdce rostlo pouze hyperplazií. Toto období trvalo do 4 postnatálního dne (PD) a vyznačovalo se velkou mírou syntézy DNA a nárůstem počtu buněk. Poté popsali přechodné období, kdy mezi PD 5 a PD 15 docházelo

k hypertrofickému růstu a stále byla detekována syntéza DNA. Jako poslední určili fázi čistě hypertrofickou, kdy od PD 15 syntéza DNA již detekována nebyla a byl pozorován nárůst pouze zvětšováním objemu jednotlivých kardiomyocytů (Clubb and Bishop, 1984).

Na tuto studii následně navázal Li a jeho kolegové (1996), kteří také sledovali v neonatální fázi přechod kardiomyocytů od hyperplazie k hypertrofii. Na kardiomyocytech izolovaných v různých vývojových stádiích (v období od PD 1 po PD 12) poté sledovali objem buněk a počet dvoujaderných buněk, jako markeru ztráty buněčné proliferace. Také byl zaznamenáván celkový počet myocytů (Li et al., 1996).



Graf č. 2: Změny potkaního neonatálního srdce v počtu myocytů (•), objemu myocytů (○) a procentuálním zastoupení dvoujaderných buněk (▽) do PD 12. První tři dny dochází k nárůstu počtu myocytů a objem i počet dvoujaderných buněk zůstává relativně stejný. Po PD 3 dojde k přechodu k hypertrofickému růstu. Počet myocytů se nemění, ale roste objem a procento dvoujaderných buněk. Převzato z Li et al., 1996.

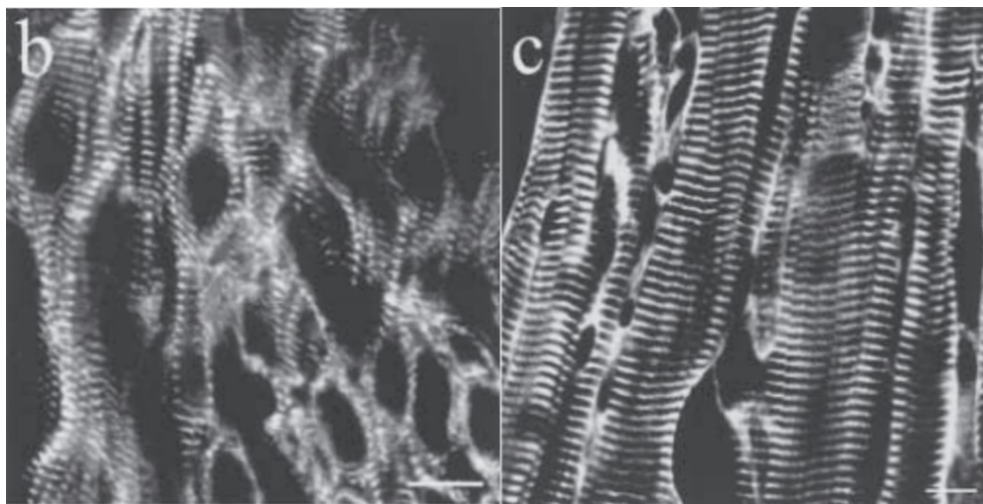
Ve studii použili metodu izolace kardiomyocytů ze srdce pomocí enzymatické aktivity, kterou popsal Gerdes (1986). Kardiomyocyty byly ze srdce izolovány pomocí roztoku obsahujícího kolagenázu II, kterým bylo promýváno retrográdně perfundované srdce. Poté byly buňky fixovány a jejich objem byl měřen na přístroji Counter Chanalyzer (Gerdes et al., 1986). Ten určuje objem buněk tím, že detekuje změny odporu elektrolytu vyvolané procházejícími myocyty o různé velikosti (Attallah and Yeatman, 1981). Počet buněk, jejich jader a rozměry kardiomyocytů byly stanoveny klasickými laboratorními postupy. Tedy barvením jader fluorescenční látkou 4,6-diamino-2-fenylindolem (DAPI), který se váže na DNA (Chazotte, 2011) a poté počítáním jader a měřením buněk přímo pod mikroskopem. Aby bylo možné detekovat proliferaci, byla potkanům intraperitoneálně

podána látka 5-bromodeoxyuridin (BrdU). Tato látka se včlení do DNA v syntetické fázi buněčného cyklu a následně je detekovatelná pod fluorescenčním mikroskopem. Pokud dochází k nárůstu jader detekovatelných po BrdU značení, je jasné, že stoupá také počet buněk, u kterých alespoň jednou došlo k replikaci (Yan et al., 2018). Při pokusu docházelo k poklesu obarvených jednojaderných buněk a proporčnímu zvýšení počtu obarvených dvoujaderných buněk. Do PD 3 byl zjištěn nárůst počtu buněk o 68 %, ale jejich objem i počet jader zůstával stejný, což naznačuje převažující růst pomocí hyperplazie. Rychlý nárůst objemu buněk beze změn v jejich počtu a zvýšení množství dvoujaderných buněk v PD 4, naopak naznačuje převažující růst pomocí hypertrofie (viz Graf č. 2) (Li et al., 1996). Tato studie tedy potvrdila přechod od hyperplazie k hypertrofii v prvních PD 15 (Clubb and Bishop, 1984). Li et al. (1996) však popsal tento přechod jako mnohem ostřejší, probíhající mezi PD 3 a 4 (Li et al., 1996).

Pro studium kardiovaskulárních chorob je stále častěji používána jako pokusný organismus myš. K jejím nejvýznamnějším výhodám patří dobře prozkoumaná genetická informace, díky které se mohou provádět transgenní pokusy (Vandamme, 2014). Přesto u ní dlouho nebyl popsán neonatální růst kardiomyocytů. Neonatální myši srdce jsou totiž pro většinu experimentů příliš malá (Ošťádal and Vízek, 2003). Postnatální růst myších srdcí byl popsán až ve studii, kterou provedl Leu et al. (2001). V této práci byla použita odlišná experimentální metoda. Aby byli výzkumníci schopni pozorovat změny myších kardiomyocytů v průběhu vývoje, použili postup, který vychází z metody Draegera et al. (1989), ale je aplikovatelný i na velmi malá srdce odebraná hned po porodu. Tato metoda spočívá v odebrání malé části tkáně, která se napne a pomocí bavlněné nitě připevní k plastovému proužku (Draeger et al., 1989). Myocyty jsou poté z tkáně uvolněny pomocí kolagenázy II a fixovány. Buňky si tak zachovají svůj původní tvar, jak lze vidět na obr. č. 5, kde jsou vedle sebe porovnávány fotky izolovaných buněk a vyfocených buněk zpracovávaných pomocí kryorezů. Výhoda této metody spočívá také v tom, že se může vybrat oblast srdce, ze které bude tkáň analyzována. Může se tak pozorovat například rozdíl ve vývoji PK a LK (Leu et al., 2001).

Využitím této metody byl potvrzen přechod k hypertrofickému růstu v neonatální fázi také u myší. Růstový vzor kardiomyocytů v neonatálním období byl velmi podobný tomu popsanému u potkanů. Do PD 4 byl zaznamenán prudký nárůst v počtu kardiomyocytů, které měly relativně konstantní objem. Po PD 5 pak docházelo v období do PD 14 naopak k prudkému nárůstu objemu buněk, u kterých nedocházelo k další proliferaci. Rozdíly v růstu byly zaznamenány mezi LK a PK. V PK po PD 5 docházelo u kardiomyocytů k nárůstu délky. Přidávání laterálních myofibril začalo až po

PD 12. U LK tomu bylo naopak, od PD 5 do PD 12 rostly kardiomyocyty do šířky, nárůst myofibril v longitudinální ose byl zaznamenán až po tomto období. Díky této studii bylo tedy ověřeno, že růst myších kardiomyocytů je podobný jako potkaních. U myší však docházelo k přechodu k hypertrofickému růstu oproti potkanům později, konkrétně PD 5 (Leu et al., 2001).



Obr. č. 5: Vizualizované buňky zpracovávané pomocí kryorezů z novorozené myši (b) a izolované buňky z dospělého srdce (c). Barveno pomocí protilátky proti myosinu. Měřítka 10 μ m (Leu et al., 2001).

Modelovým organismem bližším lidskému srdci je prase. Beinlich et al. (1995), který zkoumal růst porcíních kardiomyocytů, pozoroval nárůst v počtu kardiomyocytů LK v prvních dvou týdnech po narození o 28 %. Zaznamenával také počet dvoujaderných myocytů, do PD 5 nepozoroval skoro žádné dvoujaderné myocyty. Od PD 5 byl jejich nárůst rychlý a PD 14 bylo v LK 67 % dvoujaderných kardiomyocytů. Nárůst objemu i počtu myocytů do PD 14 byl také zaznamenán. Objem myocytů v LK vzrostl z 1075 μm^3 na 3688 μm^3 . Rozdíl v růstu ovšem nastal, pokud byl prasatům podáván enalapril. To je látka ze skupiny ACE, u které byla prokázána schopnost redukovat rozvoj hypertrofie (Childs et al., 1990). U prasat, kterým byl enalapril pravidelně podáván, došlo k výrazně menšímu růstu objemu kardiomyocytů v levé komoře. Oproti kontrolám také výrazně klesl počet dvoujaderných kardiomyocytů a stěna LK byla až o 24 % menší než u kontrol. To potvrzuje roli hypertrofie v rychlém růstu srdce v prvních dvou týdnech života selat (Beinlich et al., 1995).

Proliferační aktivita prasečích kardiomyocytů byla také zkoumána ve spojitosti s regenerativní schopností srdce po navozeném akutním infarktu myokardu (AMI) (Zhu et al., 2018). Tato studie vycházela z pokusů, které byly prováděny na myších. U myší byla po resekci apikální části komory

prokázána regenerace myokardiální tkáně v hyperplastické fázi růstu kardiomyocytů. Pokud byla resekce provedena ve dnech následujících těsně po porodu, byl myokard po regeneraci tkáně bez známek hypertrofického růstu kardiomyocytů či fibrózy. Takto velká míra regenerace byla připsána proliferativní schopnosti buněk. Pokud byla resekce navozena PD 7, vyhojení poškozené tkáně pomocí fibrózy vedlo ke kontraktilní dysfunkci (Porrello et al., 2011). Zhu et al. (2018) studoval, zda k takovéto míře regenerace dochází i u velkých savců, jako je prase. Sledoval tak míru poškození myokardu po AMI. Pomocí markerů typických pro mitózu a cytokinezi studoval míru proliferace kardiomyocytů. AMI byl navozen PD 1,2,3,7 a 14. Po 30 dnech od AMI pak byl vyhodnocen stupeň poškození. U selat s navozeným AMI v PD 1 nebyla zaznamenána žádná míra poškození a srdeční tkáň se kompletně obnovila. Pokud byl AMI navozen PD 2, obnovení myokardu a srdeční funkce již nebylo kompletní, ale míra regenerace byla přesto vysoká. Od PD 3 byl následek navození AMI mnohem vážnější a u srdcí byla pozorována dilatace a poškozená srdeční funkce (Zhu et al., 2018).

Doklad o regenerativní schopnosti myokardu u velkých savců naznačuje, že u lidských novorozenců by mohla být krátce po porodu také navýšená schopnost regenerace. Tato oblast však bude muset být dále zkoumána, aby se tato hypotéza potvrdila (Zhu et al., 2018).

Všechny doposud uvedené studie zkoumající přechod od hyperplastického růstu k růstu hypertrofickému byly provedeny na savcích. Závěry těchto studií jsou si relativně podobné. Ptačí modely se však odlišují. Li et al. (1997) studoval postnatální růst kardiomyocytů na kuřatech. Použil u nich obdobnou metodu, jakou aplikoval při studii na potkanech (Li et al., 1996). Těsně po narození pozoroval, že kardiomyocyty vykazovaly cirkulární charakter, v průběhu vývoje však docházelo k jejich prodloužení a PD 42 byla délka navýšena až o 125 %. Popsal také postupné rozšiřování buněk, šířka kardiomyocytů však vzrostla jen o 53 %, čímž byl ovlivněn tvar buňky, který je odlišný od savčího. V PD 1 byly všechny kardiomyocyty jednojaderné, do PD 15 však došlo ke zdvojení jádra u 18 % kardiomyocytů. V prvních šesti týdnech objem buněk vzrostl více než o 400 % a počet kardiomyocytů se zvýšil o 156 %. Zajímavým zjištěním také bylo, že dochází i k dělení dvoujaderných kardiomyocytů, za vzniku jedné dvoujaderné a dvou jednojaderných buněk. Ve tkáni byly také pozorovány kardiomyocyty se třemi, čtyřmi a pěti jádry. Zásadním rozdílem ve vývoji myokardu kuřat a savců je to, že kuřecí kardiomyocyty si po celou dobu pokusu zachovaly svou schopnost proliferace. Růst kuřecích srdcí tedy probíhal od narození až po PD 42 jak hyperplazií, tak hypertrofií a předpokládá se, že tento typ růstu přetrvává až do ustálení tělesné váhy (Li et al., 1997). Proliferační aktivita poikilotermních obratlovců přesahuje rámec této bakalářské práce.

4.5 Mechanismy terminální diferenciace

Zvyšování počtu jader je pokládáno za jeden ze znaků diferenciace buněk myokardu (Hlavackova et al., 2019). Krátce po ukončení hyperplastického růstu nastává v buňce fáze další syntézy DNA. V buňce tak vznikají další jádra, ale už u nich nedochází k cytokinezi (Paradis et al., 2014). Předpokládá se, že přítomnost více jader v buňce je výhodná kvůli zvýšené produkci mRNA. To by u metabolicky aktivní buňky jako je kardiomyocyt mohlo být velice výhodné z důvodu rychlejší syntézy proteinů (Ahuja et al., 2007). Nicméně otázka důvodu vzniku binukleárních kardiomyocytů není uspokojivě objasněna (Hlavackova et al., 2019). Tomuto faktu odpovídají rozdílné hodnoty dvoujaderných kardiomyocytů mezi jednotlivými živočišnými druhy. U hlodavců je dvoujaderných buněk v dospělosti 80-90 %. U lidí je toto procento menší a liší se v průběhu života, zastoupení dvoujaderných buněk v myokardu se pohybuje mezi 25-60 % (Paradis et al., 2014).

V přechodu od hyperplastického k hypertrofickému růstu hraje roli řada faktorů. Ukončení proliferační aktivity je spojeno se změnou genové exprese a zastavení buněčného cyklu buňky (Zhong et al., 2006). To se projeví při sledování specifických markerů, podle nichž lze identifikovat signifikantní pokles buněk, které se nacházejí v S fázi buněčného cyklu (typická pro proliferující buňky) (Brooks et al., 1998). Naopak vzrůstá počet buněk zastavených v G0 a G1 fázi. Přechod mezi jednotlivými fázemi je v buňce přísně regulován. K regulaci slouží převážně cyklin a s ním spojené cyklin-dependentní kinázy (CDK). V buňce jsou tyto molekuly syntetizovány specificky podle aktuální fáze buněčného cyklu (Poolman and Brooks, 1998). Ovlivnění jejich aktivity není dáno pouze mírou jejich syntézy, ale může být ovlivněno také látkami inhibujícími. U terminální diferenciace bylo zaznamenáno zastavení buněčné proliferace, snížená syntéza cyklinu a CDK a bylo u nich zjištěno zvýšené množství inhibitorů CDK (Senyo et al., 2014) jako jsou například transkripční faktory rodiny Trp, které snižují proliferaci a za normálních podmínek zabraňují vzniku nádorových buněk (Brooks et al., 1998).

Syntéza cyklinů, CDK a inhibitorů cyklinů je regulována řadou růstových faktorů. Jedním z těchto faktorů je TGFβ (Datto et al., 1995). U TGFβ byla prokázána schopnost zastavit buněčný cyklus v G1 fázi. Tato schopnost je dána ovlivněním exprese cyklinu a jeho kináz (Koff et al., 1993). K ovlivnění proliferace však dochází i bez ovlivnění hladiny cyklinů a CDK. To naznačuje, že TGFβ ovlivňuje buněčný cyklus také aktivací exprese genů pro inhibitory CDK (Kamesaki et al., 1998). Tyto inhibitory se mohou vázat na komplexy cyklinů s CDK a inhibovat tak jejich aktivitu. Konkrétním případem tohoto procesu je syntéza molekuly inhibitoru p15, která spouští v buňce procesy, které vedou

k navázání molekuly inhibitoru p27 na CDK2 a způsobí tak její inaktivaci (Reynisdóttir et al., 1995). Aktivní molekula CDK2 umožňuje vstup do buněčného cyklu spuštěním přechodu z G1 do S fáze. Její inhibicí dochází k zastavení buňky v G1 (Liao et al., 2001).

5 Vliv tlakového přetížení na vývoj myokardu

Jak bylo již dříve zmíněno u srdečních VVV, jako je aortální stenóza či koarktace, dochází k ovlivnění hemodynamiky vyvíjejícího plodu. Při zvýšení afterloadu se musí vyvíjející srdce vypořádávat s tlakovým přetížením, které zásadně ovlivňuje průběh vývoje (Ošťádal and Vízek, 2003). Stejně jako u dospělých srdcí dochází následkem tlakového přetížení u fetálních a neonatálních srdcí k ztluštění LK. Avšak v proliferační fázi srdce na zvýšenou tlakovou zátěž reaguje specifickým způsobem. V tomto případě ale nelze tento proces nazvat jako hypertrofii, protože tento termín popisuje zvětšení tkáně pouze nárůstem objemu buněk (Claycomb, 1977). V neonatálním období je však nárůst v objemu stěny komory způsoben především hyperplazií s jistou mírou hypertrofie (Sedmera et al., 2003). Proto je pro ztluštění stěny ve fetálním a neonatálním období vhodnější používat termín kardiomegalie (Ošťádal and Vízek, 2003).

Převažující hyperplastický růst namísto hypertrofického představuje zásadní rozdíl mezi myokardem dospělých a fetálním a neonatálním myokardem v reakci na tlakové přetížení (Sedmera et al., 2003). Schopnost buněk proliferovat významně ovlivňuje schopnost srdce se vypořádávat se zvýšenou mechanickou zátěží. Bližší pochopení reakce organismu a myokardu na zvýšenou tlakovou zátěž vyvolanou v proliferační fázi vývoje je žádoucí pro porozumění patologických procesů u dětí s vrozeným zvýšeným afterloadem a případné načasování intervenčního či farmakologického řešení (Pesevski and Sedmera, 2013).

5.1 Změny ve stěně levé komory

Stejně jako u dospělého myokardu je zásadním adaptivním procesem na zvýšené tlakové přetížení úměrné ztluštění stěny komory, který odpovídá Laplaceovu zákonu (Karra and Poss, 2017). U kuřecích modelů, kterým bylo tlakové přetížení navazeno ještě před vylíhnutím, byl pozorován nárůst v srdeční tkáni doprovázený zvětšením srdce. Z počátku došlo k mírné dilataci a tvar srdce se stával více sférický. Srdce byla oproti kontrolám výrazně větší a protáhlejší (Sedmera et al., 1999). Hmotnost komory se zvýšila v průměru asi o 30 µg oproti kontrolním embryím (Clark et al., 1989).

Významné zvětšení srdce v reakci na tlakovou zátěž bylo taktéž popsáno u postnatálních potkanů, kterým byla PD 2 provedena konstrikce abdominální aorty. Po provedení konstrikce následoval rychlý nárůst v hmotnosti srdce, který byl znatelný už první den po podvazu. Statistická signifikance však byla sledována až 5. postnatální den, kdy u kontrol byla hodnota hmotnosti srdce ku hmotnosti těla (HW/BW) $3,9 \pm 0,1$ mg/g a u operovaných jedinců $4,9 \pm 0,2$ mg/g. Rozdíl mezi skupinami poté s vývojem rostl a PD 21 vzrostla tato hodnota u operovaných na $8,1 \pm 0,8$ mg/g, kdežto u kontrol byl poměr zachován na hodnotě $3,9 \pm 0,1$ mg/g. Na rozdíl od konstrikce provedené PD 6, byla u těchto zvířat pomocí BrdU detekována zvýšená proliferační aktivita odpovídající stimulovanému hyperplastickému růstu. Naproti tomu u potkanů, kde byla konstrikce provedena PD 6, byl pozorován pouze hypertrofický růst (Sedmera et al., 2003).

Zvětšení srdce a nárůst váhy LK je spojeno s kompaktací stěny komory, která je při tlakovém přetížení urychlena. Po navození tlakového přetížení dochází k ztlušťování stěny komory, a tedy k efektivnější čerpací funkci srdce. Ve studii *in ovo*, byl v porovnání s kontrolními kuřaty zaznamenán až o 64 % větší celkový nárůst stěny komory. U kompaktní části myokardu došlo k ztluštění o 43 % (Sedmera et al., 1999). Tento nárůst je dán zmnožením vrstev buněk kompaktního myokardu, které po tlakovém přetížení rychle přibývají. U kuřat po konstrikci výtokového traktu byl nalezen počet vrstev 7-8, oproti 5-7 vrstvám u neoperovaných kontrol ve stejném vývojovém stádiu (Tomanek et al., 1999). U postnatálních potkanů po konstrikci aorty byla šířka stěny LK také výrazně větší. Podvazy vedly k postupnému ztlušťování komory o 23 % první den po podvazu, o 25 % třetí den a o 62 % 10 dní po zákroku. Na konci experimentu, konkrétně PD 21, byla šířka stěny u podvazovaných potkanů $2,19 \pm 0,10$ mm a u kontrolních zvířat $1,58 \pm 0,04$ mm. Šířka PK byla signifikantně ovlivněna jen u zvířat s největší mírou kardiomegalie LK (Sedmera et al., 2003).

5.2 Změny ve vývoji cév

Adekvátní vývoj cév je důležitou podmínkou limitující adaptaci na tlakové přetížení. Při tlakovém přetížení dochází k abnormálnímu navýšení velikosti tkáně a počtu buněk. Musí tedy dojít i k akceleraci vývoje koronárního řečiště (Gogiraju et al., 2019). Tento jev zkoumal Flanagan et al. (1991), který sledoval, zda je nárůst srdeční tkáně spojen také s nárůstem vaskulární sítě. Pomocí podvazů aorty navodil u jehňat stav tlakového přetížení. Následně zaznamenal u srdcí s tlakovým přetížením nárůst v počtu vlásečnic o 32 % v porovnání s kontrolami. Nezaznamenal pokles ve vaskulární hustotě či koronární rezervě (Flanagan et al., 1991). Ke stejnému závěru dospěl také Tomanek et al. (1999), který pomocí elektronové mikroskopie sledoval procentuální zastoupení cév

ve tkáni a také jejich počet na určitou oblast. S nástupem rychlejšího růstu myokardu se zrychlil také proces vzniku cév. Stejně je tomu tak u tlakového přetížení v dospělém myokardu, kde hypertrofický nárůst tkáně vyvolá angiogenezi. Na rozdíl od dospělého myokardu však v embryonálním a neonatálním myokardu dochází k angiogenezi proporcionální s nárůstem tkáně (Kayar and Weiss, 1992; Kolář et al., 1998). Zůstává tak zachován poměr procentuálního zastoupení cév ve tkáni a kompenzace nárůstu kyslíkových potřeb (Tomanek et al., 1999). Pro vznik a růst cév je důležitá určitá míra hypoxie, která vyvolá navýšení mRNA pro VEGF (Levy et al., 1995). Je tedy možné, že zvýšená míra hypoxie vyvolaná nárůstem kompaktní svaloviny iniciuje vznik cév ve větší míře, než je tomu při fyziologických podmínkách (Tomanek et al., 1999).

5.3 Změny v počtu a velikosti kardiomyocytů

Na buněčné úrovni se tlakové přetížení projeví nejprve proliferací ústící v nárůstu počtu kardiomyocytů. Při sledování proliferace pomocí barvení jader, bylo zjištěno, že tlakové přetížení vede ke zvýšeným hodnotám počtu buněčných generací (Sedmera et al., 2003). Společně s narůstajícím počtem kardiomyocytů, dochází také k dělení a nárůstu počtu non-myocytálních buněk. Při sledování hydroxyprolinu jako specifického markeru pro fibrilární kolagen, byl u potkaních srdcí po neonatální konstrikci aorty sledován signifikantní nárůst oproti kontrolám. Tento nárůst byl ale úměrný nárůstu myocytů a kontraktilita stěny komory tak nebyla ovlivněna fibrózou, jako je tomu u případů přetrvávajícího tlakového přetížení u vyspělého myokardu (Kolář et al., 1998). Hypertrofický růst kardiomyocytů se projevuje až PD 10. Do té doby (PD 3 a 5) není rozdíl v šířce kardiomyocytů mezi jednotlivými skupinami patrný. Až PD 10 se začínají projevovat u srdcí s výrazným tlakovým přetížením rozdíly v šířce kardiomyocytů oproti kontrolám, a to až o 42 %. Průměrné hodnoty šířky kardiomyocytů všech podvazovaných zvířat měřených PD 10 však nevykazovaly statisticky signifikantní rozdíl. Ten se projevil u straších srdcí, která byla zkoumána PD 21, a koreloval s navýšením hmotnosti srdce. Největší nárůst šířky kardiomyocytů byl pozorován u srdcí s nejvyšším HW/BW a to až 66 % (Sedmera et al., 2003).

5.4 Změny genové exprese

Na signalizaci a následných adaptačních změnách v důsledku tlakového přetížení se podílí řada mechanismů. Na spuštění signálních kaskád, vedoucích ke změnám v genetické expresi mají vliv i některé růstové faktory (Sedmera et al., 2003). Při studování vlivu tlakového přetížení na změnu

exprese genů myokardu se uplatňují geneticky modifikované organismy. Jejich výhodou je nezávislost na operaci zvířat (Ošťádal and Vízek, 2003).

Jedním z mnoha takových modelů je například vyřazení svalového LIM proteinu (MLP), u kterého byla prokázána nižší míra syntézy při tlakovém přetížení. U myši s vyřazeným MLP byla pozorována hypertrofie a dilatační kardiomyopatie, jako je tomu u těžkého a dlouhotrvajícího tlakového přetížení (Ecarot-Laubriet et al., 2000). Klinické obrazy těchto myši byly velice podobné těm pozorovaným u lidí s diagnostikovanou dilatovanou kardiomyopatií a srdečním selháním (Arber et al., 1997). Při narození jsou srdce transgenních myši i kontrol morfologicky téměř shodné a v neonatálním období kardiomyocyty těchto transgenních myši také vykazují vysokou míru podobnosti. Avšak jsou již ze začátku menší (Leu et al., 2001). U neonatálních myši s vyřazeným MLP se známky hypertrofie neobjevily do PD 5. Po PD 5 se začaly vyskytovat známky defektů a do PD 10 se vyvinuly až u 70 % myši s nefunkčními oběma alelami. Po projevení těchto defektů myši umíraly během 20 až 30 hodin. U všech myši s vyřazeným MLP, které se dožily dospělosti, se vyvinula hypertrofie a dilatace srdce (Arber et al., 1997). Srdeční svalové buňky u dospělých myši s vyřazeným MLP se vyznačují velikou variabilitou ve velikosti a tvaru. Jsou celkově větší a jejich vnitřní struktura je změněna. To bylo prokázáno na stavbě myofibril, které jsou u myši s normálním genotypem striktně paralelně uspořádané. U myši s vyřazeným MLP se tato uspořádanost ztrácí (Leu et al., 2001).

Krom zmíněného MLP modelu byla vyvinuta celá řada geneticky upravených myších linií, umožňující detailně studovat mechanismy podílející se na vzniku a patogenezi geneticky vázaných kardiomyopatií (Ošťádal and Vízek, 2003).

5.5 Negativní vliv tlakového přetížení na vývoj myokardu

Tlakové přetížení tedy v prenatalní a neonatálním období spouští převážně adaptivní procesy a je tak většinou dobře kompenzováno. Avšak i tyto adaptivní procesy mají, podobně jako u dospělého myokardu, své limity (Sedmera et al., 2003). Ztluštění stěny komory je účinný prostředek, jak zvýšit efektivitu kontrakce, avšak přetrvávající tlakové přetížení u neonatálních ovcí po 8 týdnech vedlo ke snížení srdeční funkce (Leeuwenburgh et al., 2001). Nárůst v šířce konstrikované PK vyústil ve zvýšení tuhosti tkáně a snížení schopnosti relaxace. Funkce srdce tak byla snížena díky omezenému diastolickému plnění (Leeuwenburgh et al., 2008). Nekompenzované ztluštění stěny by mohl být také důvod zvýšené letality ve studii na embryonálních kuřatech (Pesevski and Sedmera, 2013). U sledovaných embryí byla ve vývojové fázi před vznikem funkčního koronárního systému zaznamenána vyšší úmrtnost. Předčasná kompaktace stěny by tak mohla být spíše nevýhodným

procesem, pokud by byla urychlena příliš (Sedmera et al., 1999). Také u neonatálních potkanů s velkým tlakovým přetížením byla zaznamenána dilatační kardiomyopatie. Tyto případy byly v počátečních stádiích spíše výjimečné, ale po překročení kompenzačních limitů neonatální tkáň pokračující tlaková zátěž vedla k dilataci, srdečnímu selhání a letalitě u starších zvířat (Sedmera et al., 2003).

Modely tlakového přetížení jsou spojeny s výraznými hemodynamickými změnami ovlivňujícími morfogenezi a často vedou ke vzniku VVV (Sedmera et al., 1999). Výrazné tlakové přetížení pouze jedné z komor ústí ve změny pravolevých poměrů. Až dvakrát větší nárůst v poměru šířky PK ku LK byl popsán na modelu konstrikce plicnice u neonatálních jehňat (Leeuwenburgh et al., 2008). Naopak u patologického snížení tlaku u vyvíjející se LK byl popsán rozvoj syndromu hypoplastického levého srdce (Gobergs et al., 2016). Při kterém se abnormální hemodynamické poměry projeví na změnách ve stavbě komory, kvůli kterým LK není schopna plnit svou funkci, a PK tak kompletně přebírá funkci systémové pumpy. Po porodu a uzavření fetálních spojek dochází ke komplikacím, a přestože se vyskytuje relativně vzácně, v prvním týdnu života je důvodem úmrtí ve 23 % případů (Yabrodi and Mastropietro, 2017).

Tlakové přetížení během vývoje srdce je také spojováno s defekty komorového septa (Spicer et al., 2014). Komorové defekty byly popsány samostatně nebo s malformacemi výtokové části (Midgett and Rugonyi, 2014). Tyto defekty se projevily buď společným vývodem pro PK i LK nebo aortou napojenou na PK (Sedmera et al., 1999). U kuřecích modelů, byl po konstrikci sledován vývoj výtokových částí. Clark et al. (1984) sledoval vzdálenost mezi mitrální a aortální chlopní. Při trvalé konstrikci docházelo k signifikantnímu zvětšení mezi těmito částmi, které bylo zřejmě způsobeno ovlivněním migrujících buněk při vývoji. Pokud se signifikantně zvětšila vzdálenost mezi mitrální a aortální chlopní, vznikl defekt septa a aorta vycházela společně s plicní tepnou z PK (Clark et al., 1984). Tlakovým přetížením mohou být ovlivněny také chlopně a jejich funkce. U výrazného tlakového přetížení se začala měnit morfologie trikuspidální chlopně, která vykazovala známky spíše dvojčípé mitrální chlopně (Sedmera et al., 1999).

6 Modely tlakového přetížení v neonatálním období

Experimentální modely jsou zásadní pro výzkum a pochopení mechanismu patologií, které v srdci při tlakovém přetížení vznikají. Data, která jsou díky těmto modelům získána, mohou být využita pro vývoj nových terapeutických přístupů (Camacho et al., 2016). Zvolení optimálního modelového organismu a vhodné experimentální metody tak, aby byla věrně napodobena situace v lidském organismu je téměř nemožná. Přesto jsou výzkumy na zvířecích modelech nepostradatelné pro pochopení vzniku a průběhu patologií. Vědci se proto alespoň snaží co nejvěrněji napodobit podmínky, které při patologii uplatňují (Elsner and Riegger, 1995).

Pro studium vlivu tlakového přetížení na myokard se často používá transversální konstrikce aorty u potkanů. Podvázáním aorty dochází k prudkému navýšení afterloadu (Berry et al., 2007). Provést podvaz u neonatálních potkanů je však složité, kvůli jejich malé velikosti a chirurgický zákrok tak vyžaduje vysokou úroveň zručnosti (Ku et al., 2016). Podvázání se tak děje převážně u starších a větších zvířat, kdy už došlo k přechodu od hyperplastického růstu k hypertrofickému. Výstupy z těchto experimentů tak nejsou vhodné pro popis vlivu tlakového přetížení na myokard u VVV, které ovlivňují hemodynamiku ve fetálním období, kdy jsou srdeční buňky ještě schopné proliferace (Kolář et al., 1998). Tato experimentální metoda také není úplně ideální ani pro simulaci tlakového přetížení u dospělého myokardu. Její významnou nevýhodou je rapidní změna hemodynamických podmínek, na které srdce reaguje velice silně a rychle dochází k přechodu do maladadaptivní fáze procesu remodelace. Za normálních podmínek však dochází k postupnému vzniku patologie a hemodynamické změny probíhají pozvolně (Ošťádal and Vízek, 2003).

Kolář et al. (1998) proto použil unikátní metodu, díky které mohl podvaz u potkaního mláděte provést už na PD 2. Upravil operační metodu tak, aby mohl konstrikci aorty provést u takto malých zvířat, při relativně nízké mortalitě. Na Fyziologickém ústavu AV ČR tak mohli jako první pozorovat změny navozené tlakovým přetížením u neonatálních potkanů, u kterých ještě nedošlo k zastavení buněčné proliferace. Tato metoda využívá malého řezu, kterým se z levé dorzolaterální strany odkryje abdominální úsek aorty a provede se podvaz v subdiafragmatické suprarenální části. Pro podvaz se používá jako vzor jehla o vnějším průměru 0,25 mm, která se přiloží k aortě. Konstrikce se dotáhne na průměr jehly, která se poté odstraní. Takto je možné přesně regulovat šířku konstrikce a zajistit reprodukovatelnost metody. Postupným růstem aorty pak dochází ke graduálnímu vzestupu tlakového přetížení. U takto operovaných zvířat bylo možné popsat změny při přechodu z kompenzované hypertrofie až po srdeční selhání (Kolář et al., 1998).

7 Závěr

Změny tlakových poměrů mají nezanedbatelný vliv na vývoj myokardu. Bližší pochopení průběhu patologií, které vznikají ve spojitosti s tlakovým přetížením, by mohlo pomoci při léčbě vrozených srdečních vad a snížit tak mortalitu, která se s nimi pojí. Procesy, které po tlakovém přetížení následují a ovlivňují vyvíjející se srdce v architektonice a funkci na mnoha úrovních, nejsou zatím zcela prozkoumány a popsány. Řada studií se zabývá vlivem tlakového přetížení na dospělý myokard a rozvoj následné hypertrofie. Přes vysokou klinickou relevanci, není mnoho studií věnující se vlivu tlakového přetížení na vyvíjející se myokard v prenatálním a raném postnatálním období, kdy kardiomyocyty mají schopnost hyperplastického růstu. Navíc tyto studie mají mnohá specifika, která experimentální přístupy komplikují. Navození tlakového přetížení a následujících procesů, které ve fetálním a neonatálním období nastávají, jsou sice popsány na několika zvířecích modelech, data se však liší v závislosti na modelovém organismu a jsou ovlivněna i věkem zvířete. Další výzkumy na toto téma jsou tedy vysoce žádoucí, aby bylo možné prohloubit naše znalosti o problematice a přispět k pochopení průběhu kardiovaskulárních onemocnění u lidí. Jedním z unikátních modelů, který se touto problematikou zabývá, a díky kterému už byla získána řada cenných dat, je model konstrikce abdominální aorty potkanů PD 2 vyvinutý na FGU AV ČR.

V diplomové práci bych chtěla navázat na problematiku remodelace srdce v důsledku tlakového přetížení v neonatálním období. Na popsaném modelu abdominální konstrikce u potkana bych se ráda zaměřila na ovlivnění exprese Cx. Změna mezibuněčných spojů zásadně ovlivňuje šíření vzruchu srdcem, a může vést k vyššímu riziku vzniku srdečních arytmií. Ve spolupráci s FGU AV ČR, by bylo možné sledovat elektrofyzilogické změny v rané neonatálních fází, které by mohly pomoci k lepšímu poznání změn ve vedení elektrických vzruchů u dětí, které se narodí s vrozenou srdeční vadou.

8 Seznam literatury

- Agrawal, H., Bokowski, J.W., Kenny, D., 2018. Coarctation of the Aorta, in: Alboliras, E., Hijazi, Z.M., Lopez, L., Hagler, D.J. (Eds.), *Visual Guide to Neonatal Cardiology*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK, pp. 260–264. <https://doi.org/10.1002/9781118635520.ch42>
- Ahuja, P., Sdek, P., MacLellan, W.R., 2007. Cardiac Myocyte Cell Cycle Control in Development, Disease, and Regeneration. *Physiological Reviews*. <https://doi.org/10.1152/physrev.00032.2006>
- Allan, L.D., Crawford, D.C., Tynan, M., 1984. Evolution of coarctation of the aorta in intrauterine life. *Br Heart J* 52, 471–473.
- Anderson, R.H., Brown, N.A., Webb, S., 2002. Development and structure of the atrial septum. *Heart* 88, 104–110.
- Anversa, P., Olivetti, G., Capasso, J.M., 1991. Cellular basis of ventricular remodeling after myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 68, 7D-16D.
- Arber, S., Hunter, J.J., Ross, J., Hongo, M., Sansig, G., Borg, J., Perriard, J.C., Chien, K.R., Caroni, P., 1997. MLP-deficient mice exhibit a disruption of cardiac cytoarchitectural organization, dilated cardiomyopathy, and heart failure. *Cell* 88, 393–403.
- Assali, N.S., Sehgal, N., Marable, S., 1962. Pulmonary and ductus arteriosus circulation in the fetal lamb before and after birth. *Am. J. Physiol.* 202, 536–540. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1962.202.3.536>
- Attallah, A.M., Yeatman, T.J., 1981. ADCC analysis with the Coulter counter: a highly sensitive, ultramicro assay suitable for clinical and experimental application. *J. Immunol. Methods* 43, 121–129.
- Beinlich, C.J., Rissinger, C.J., Morgan, H.E., 1995. Mechanisms of rapid growth in the neonatal pig heart. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 27, 273–281.
- Bellomo Daniela, Headrick John P., Silins Ginters U., Paterson Carol A., Thomas Penny S., Gartside Michael, Mould Arne, Cahill Marian M., Tonks Ian D., Grimmond Sean M., Townson Steve, Wells Christine, Little Melissa, Cummings Margaret C., Hayward Nicholas K., Kay Graham F., 2000. Mice Lacking the Vascular Endothelial Growth Factor-B Gene (Vegfb) Have Smaller Hearts, Dysfunctional Coronary Vasculature, and Impaired Recovery From Cardiac Ischemia. *Circulation Research* 86, e29–e35. <https://doi.org/10.1161/01.RES.86.2.e29>
- Berry, J.M., Naseem, R.H., Rothermel, B.A., Hill, J.A., 2007. Models of cardiac hypertrophy and transition to heart failure. *Drug Discovery Today: Disease Models, Cardiovascular diseases* 4, 197–206. <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2007.06.003>
- Boulaksil, M., Winckels, S.K.G., Engelen, M.A., Stein, M., van Veen, T.A.B., Jansen, J.A., Linnenbank, A.C., Bierhuizen, M.F.A., Groenewegen, W.A., van Oosterhout, M.F.M., Kirkels, J.H., de Jonge, N., Varró, A., Vos, M.A., de Bakker, J.M.T., van Rijen, H.V.M., 2010. Heterogeneous Connexin43 distribution in heart failure is associated with dispersed conduction and enhanced susceptibility to ventricular arrhythmias. *Eur. J. Heart Fail.* 12, 913–921. <https://doi.org/10.1093/eurjhf/hfq092>
- Brooks, G., Poolman, R.A., Li, J.-M., 1998. Arresting developments in the cardiac myocyte cell cycle: Role of cyclin-dependent kinase inhibitors. *Cardiovasc Res* 39, 301–311. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(98\)00125-4](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(98)00125-4)
- Buyens, A., Gyselaers, W., Coumans, A., Nasiry, S.A., Willekes, C., Boshoff, D., Frijns, J.-P., Witters, I., 2012. Difficult prenatal diagnosis: fetal coarctation. *Facts, Views & Vision in ObGyn* 4, 230.
- Camacho, P., Fan, H., Liu, Z., He, J.-Q., 2016. Small mammalian animal models of heart disease. *Am J Cardiovasc Dis* 6, 70–80.
- Cary, T., Pearce, J., 2013. Aortic stenosis: pathophysiology, diagnosis, and medical management of nonsurgical patients. *Crit Care Nurse* 33, 58–72. <https://doi.org/10.4037/ccn2013820>

- Chazotte, B., 2011. Labeling nuclear DNA using DAPI. Cold Spring Harb Protoc 2011, pdb.prot5556. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5556>
- Childs, T.J., Adams, M.A., Mak, A.S., 1990. Regression of cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats by enalapril and the expression of contractile proteins. *Hypertension* 16, 662–668.
- Čihák, R., 2016. Anatomie 3: Třetí, upravené a doplněné vydání. Grada Publishing, a.s.
- Clark, E.B., Hu, N., Frommelt, P., Vandekieft, G.K., Dummett, J.L., Tomanek, R.J., 1989. Effect of increased pressure on ventricular growth in stage 21 chick embryos. *Am. J. Physiol.* 257, H55–61. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1989.257.1.H55>
- Clark, E.B., Hu, N., Rosenquist, G.C., 1984. Effect of conotruncal constriction on aortic-mitral valve continuity in the stage 18, 21 and 24 chick embryo. *Am. J. Cardiol.* 53, 324–327.
- Claycomb, W.C., 1977. Cardiac-muscle hypertrophy. Differentiation and growth of the heart cell during development. *Biochem. J.* 168, 599–601.
- Clubb, F.J., Bishop, S.P., 1984. Formation of binucleated myocardial cells in the neonatal rat. An index for growth hypertrophy. *Lab. Invest.* 50, 571–577.
- Coceani, F., Baragatti, B., 2012. Mechanisms for Ductus Arteriosus Closure. *Seminars in Perinatology, Patent Ductus Arteriosus: Mechanisms and Management* 36, 92–97. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2011.09.018>
- Cohn, J.N., Ferrari, R., Sharpe, N., 2000. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J. Am. Coll. Cardiol.* 35, 569–582.
- Datto, M.B., Li, Y., Panus, J.F., Howe, D.J., Xiong, Y., Wang, X.F., 1995. Transforming growth factor beta induces the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 through a p53-independent mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 5545–5549.
- Detterich, J.A., 2017. Myocardial fibrosis: the heart of diastole? *Blood* 130, 104–105. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-05-786335>
- Dhalla, N.S., Kaura, D., Liu, X., Beamish, R.E., 1996. Mechanisms of subcellular remodelling in post-infarct heart failure. *EXS* 76, 463–477.
- Dice, J.E., Bhatia, J., 2007. Patent Ductus Arteriosus: An Overview. *J Pediatr Pharmacol Ther* 12, 138–146. <https://doi.org/10.5863/1551-6776-12.3.138>
- Dijkema, E.J., Leiner, T., Grotenhuis, H.B., 2017. Diagnosis, imaging and clinical management of aortic coarctation. *Heart* 103, 1148–1155. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2017-311173>
- Doenst, T., Bugger, H., Schwarzer, M., Faerber, G., Borger, M.A., Mohr, F.W., 2008. Three good reasons for heart surgeons to understand cardiac metabolism. *Eur J Cardiothorac Surg* 33, 862–871. <https://doi.org/10.1016/j.ejcts.2008.02.015>
- Draeger, A., Stelzer, E.H., Herzog, M., Small, J.V., 1989. Unique geometry of actin-membrane anchorage sites in avian gizzard smooth muscle cells. *J. Cell. Sci.* 94 (Pt 4), 703–711.
- Duan, D.D., 2010. A Leakage Leads to Failure: Roles of Sarcoplasmic Reticulum Ca²⁺ Leak via RyR2 in Heart Failure Progression. *Hypertension* 55, 849–851. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.147991>
- Ecarnot-Laubriet, A., De Luca, K., Vandroux, D., Moisan, M., Bernard, C., Assem, M., Rochette, L., Teyssier, J.R., 2000. Downregulation and nuclear relocation of MLP during the progression of right ventricular hypertrophy induced by chronic pressure overload. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 32, 2385–2395. <https://doi.org/10.1006/jmcc.2000.1269>
- Eckhardt, A., Kulhava, L., Miksik, I., Pataridis, S., Hlavackova, M., Vasinova, J., Kolar, F., Sedmera, D., Ostadal, B., 2018. Proteomic analysis of cardiac ventricles: baso-apical differences. *Mol. Cell. Biochem.* 445, 211–219. <https://doi.org/10.1007/s11010-017-3266-8>
- Elliott, G.C., Gurtu, R., McCollum, C., Newman, W.G., Wang, T., 2014. Foramen Ovale Closure Is a Process of Endothelial-to-Mesenchymal Transition Leading to Fibrosis. *PLoS One* 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107175>

- Elsner, D., Riegger, G.A., 1995. Characteristics and clinical relevance of animal models of heart failure. *Curr. Opin. Cardiol.* 10, 253–259.
- Flanagan, M.F., Fujii, A.M., Colan, S.D., Flanagan, R.G., Lock, J.E., 1991. Myocardial angiogenesis and coronary perfusion in left ventricular pressure-overload hypertrophy in the young lamb. Evidence for inhibition with chronic protamine administration. *Circ. Res.* 68, 1458–1470.
- Frangogiannis, N.G., 2019. Cardiac fibrosis: Cell biological mechanisms, molecular pathways and therapeutic opportunities. *Molecular Aspects of Medicine, Pathophysiology of Organ and Tissue Fibrosis* 65, 70–99. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2018.07.001>
- Friehe, I., Margossian, R.E., Moran, A.M., Cao-Danh, H., Moses, M.A., del Nido, P.J., 2006. Vascular endothelial growth factor delays onset of failure in pressure-overload hypertrophy through matrix metalloproteinase activation and angiogenesis. *Basic Res Cardiol* 101, 204–213. <https://doi.org/10.1007/s00395-005-0581-0>
- Frohlich, E.D., Susic, D., 2012. Pressure overload. *Heart Fail Clin* 8, 21–32. <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2011.08.005>
- Ganong, W.F., 2005. *Přehled lékařské fyziologie: dvacáté vydání*. Galén, Praha.
- Genet, M., Lee, L.C., Baillargeon, B., Guccione, J.M., Kuhl, E., 2016. Modeling Pathologies of Diastolic and Systolic Heart Failure. *Ann Biomed Eng* 44, 112–127. <https://doi.org/10.1007/s10439-015-1351-2>
- Gerdes, A.M., Moore, J.A., Hines, J.M., Kirkland, P.A., Bishop, S.P., 1986. Regional differences in myocyte size in normal rat heart. *Anat. Rec.* 215, 420–426. <https://doi.org/10.1002/ar.1092150414>
- Ghanayem, N.S., Gordon, J.B., 2001. Modulation of pulmonary vasomotor tone in the fetus and neonate. *Respir Res* 2, 139–144. <https://doi.org/10.1186/rr50>
- Giordano, F.J., 2005. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest* 115, 500–508. <https://doi.org/10.1172/JCI200524408>
- Gobergs, R., Salputra, E., Lubaua, I., 2016. Hypoplastic left heart syndrome: a review. *Acta Med Litu* 23, 86–98. <https://doi.org/10.6001/actamedica.v23i2.3325>
- Godo, S., Shimokawa, H., 2017. Endothelial Functions. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 37, e108–e114. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.309813>
- Gogiraju, R., Bochenek, M.L., Schäfer, K., 2019. Angiogenic Endothelial Cell Signaling in Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. *Front Cardiovasc Med* 6. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2019.00020>
- Gomella, T.L. (Ed.), 1999. *Neonatology: management, procedures, on-call problems, diseases and drugs*, 4. ed. ed, a Lange clinical manual. Appleton & Lange, Stamford, Conn.
- Gong, H., Lyu, X., Wang, Q., Hu, M., Zhang, X., 2017. Endothelial to mesenchymal transition in the cardiovascular system. *Life Sci.* 184, 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2017.07.014>
- González, A., Schelbert, E.B., Díez, J., Butler, J., 2018. Myocardial Interstitial Fibrosis in Heart Failure: Biological and Translational Perspectives. *J. Am. Coll. Cardiol.* 71, 1696–1706. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.02.021>
- Gourdie, R., Green, C., J. Severs, N., P. Thompson, R., 1992. Immunolabeling patterns of gap junction connexins in the developing and mature rat heart. *Anatomy and embryology* 185, 363–78. <https://doi.org/10.1007/BF00188548>
- Gournay, V., 2011. The ductus arteriosus: Physiology, regulation, and functional and congenital anomalies. *Archives of Cardiovascular Diseases* 104, 578–585. <https://doi.org/10.1016/j.acvd.2010.06.006>
- Grossman, W., Jones, D., McLaurin, L.P., 1975. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J. Clin. Invest.* 56, 56–64. <https://doi.org/10.1172/JCI108079>
- Gyöngyösi, M., Winkler, J., Ramos, I., Do, Q.-T., Firat, H., McDonald, K., González, A., Thum, T., Díez, J., Jaisser, F., Pizard, A., Zannad, F., 2017. Myocardial fibrosis: biomedical research from bench to bedside. *Eur. J. Heart Fail.* 19, 177–191. <https://doi.org/10.1002/ehf.696>

- Hansson, G.K., Hermansson, A., 2011. The immune system in atherosclerosis. *Nat. Immunol.* 12, 204–212. <https://doi.org/10.1038/ni.2001>
- Harris, B.S., Baicu, C.F., Haghsheenas, N., Kasiganesan, H., Scholz, D., Rackley, M.S., Miquerol, L., Gros, D., Mukherjee, R., O'Brien, T.X., 2012. Remodeling of the peripheral cardiac conduction system in response to pressure overload. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 302, H1712–1725. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00621.2011>
- Hendrych, M., Olejníčková, V., Nováková, M., 2016. Calcium versus strontium handling by the heart muscle. *Gen. Physiol. Biophys.* 35, 13–23. https://doi.org/10.4149/gpb_2015026
- Heymann, M.A., Rudolph, A.M., 1975. Control of the ductus arteriosus. *Physiol. Rev.* 55, 62–78. <https://doi.org/10.1152/physrev.1975.55.1.62>
- Hlavackova, M., Kardami, E., Fandrich, R., Pierce, G.N., 2019. Do different nuclei in a binucleated cardiomyocyte have different rates of nuclear protein import? *J. Mol. Cell. Cardiol.* 126, 140–142. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2018.08.030>
- Izumiya Yasuhiro, Shiojima Ichiro, Sato Kaori, Sawyer Douglas B., Colucci Wilson S., Walsh Kenneth, 2006. Vascular Endothelial Growth Factor Blockade Promotes the Transition From Compensatory Cardiac Hypertrophy to Failure in Response to Pressure Overload. *Hypertension* 47, 887–893. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000215207.54689.31>
- Jaeggi, E., Chaturvedi, R.R., 2018. Intervention for fetal critical aortic stenosis: first step in a metamorphosis? *Ultrasound Obstet Gynecol* 52, 151–152. <https://doi.org/10.1002/uog.19159>
- Jansen, J.A., van Veen, T.A.B., de Bakker, J.M.T., van Rijen, H.V.M., 2010. Cardiac connexins and impulse propagation. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 48, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.08.018>
- Johnson, P., Maxwell, D., Tynan, M., Allan, L., 2000. Intracardiac pressures in the human fetus. *Heart* 84, 59–63. <https://doi.org/10.1136/heart.84.1.59>
- Kallio, M., Rahkonen, O., Mattila, I., Pihkala, J., 2017. Congenital aortic stenosis: treatment outcomes in a nationwide survey. *Scand. Cardiovasc. J.* 51, 277–283. <https://doi.org/10.1080/14017431.2017.1355069>
- Kamesaki, H., Nishizawa, K., Michaud, G.Y., Cossman, J., Kiyono, T., 1998. TGF- β 1 Induces the Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor p27Kip1 mRNA and Protein in Murine B Cells. *The Journal of Immunology* 160, 770–777.
- Kanaganayagam, G.S., Malik, I.S., 2012. Modern management of a patent foramen ovale. *JRSM Cardiovasc Dis* 1. <https://doi.org/10.1258/cvd.2012.012017>
- Kang, C., Zhao, E., Zhou, Y., Zhao, H., Liu, Y., Gao, N., Huang, X., Liu, B., 2016. Dynamic Changes of Pulmonary Arterial Pressure and Ductus Arteriosus in Human Newborns From Birth to 72 Hours of Age. *Medicine (Baltimore)* 95. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002599>
- Karra, R., Poss, K.D., 2017. Redirecting cardiac growth mechanisms for therapeutic regeneration. *J. Clin. Invest.* 127, 427–436. <https://doi.org/10.1172/JCI89786>
- Kayar, S.R., Weiss, H.R., 1992. Diffusion distances, total capillary length and mitochondrial volume in pressure-overload myocardial hypertrophy. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 24, 1155–1166.
- Kiserud, T., Hellevik, L.R., Eik-Nes, S.H., Angelsen, B.A.J., Blaas, H.-G., 1994. Estimation of the pressure gradient across the fetal ductus venosus based on doppler velocimetry. *Ultrasound in Medicine & Biology* 20, 225–232. [https://doi.org/10.1016/0301-5629\(94\)90062-0](https://doi.org/10.1016/0301-5629(94)90062-0)
- Koff, A., Ohtsuki, M., Polyak, K., Roberts, J.M., Massague, J., 1993. Negative regulation of G1 in mammalian cells: inhibition of cyclin E-dependent kinase by TGF-beta. *Science* 260, 536–539. <https://doi.org/10.1126/science.8475385>
- Kolář, F., Papoušek, F., Pelouch, V., Ošťádal, B., Rakusan, K., 1998. Pressure Overload Induced in Newborn Rats: Effects on Left Ventricular Growth, Morphology, and Function. *Pediatric Research* 43, 521–526. <https://doi.org/10.1203/00006450-199804000-00014>
- Kostin, S., Dammer, S., Hein, S., Klovekorn, W.P., Bauer, E.P., Schaper, J., 2004. Connexin 43 expression and distribution in compensated and decompensated cardiac hypertrophy in patients

- with aortic stenosis. *Cardiovasc Res* 62, 426–436.
<https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2003.12.010>
- Ku, H.-C., Lee, S.-Y., Wu, Y.-K.A., Yang, K.-C., Su, M.-J., 2016. A Model of Cardiac Remodeling Through Constriction of the Abdominal Aorta in Rats. *J Vis Exp*. <https://doi.org/10.3791/54818>
- Lajiness, J.D., Conway, S.J., 2012. The Dynamic Role of Cardiac Fibroblasts in Development and Disease. *J Cardiovasc Transl Res* 5, 739–748. <https://doi.org/10.1007/s12265-012-9394-3>
- Leeuwenburgh, B.P., Helbing, W.A., Steendijk, P., Schoof, P.H., Baan, J., 2001. Biventricular systolic function in young lambs subject to chronic systemic right ventricular pressure overload. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 281, H2697–2704.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.2001.281.6.H2697>
- Leeuwenburgh, B.P.J., Helbing, W.A., Wenink, A.C.G., Steendijk, P., de Jong, R., Dreef, E.J., Gittenberger-de Groot, A.C., Baan, J., van der Laarse, A., 2008. Chronic right ventricular pressure overload results in a hyperplastic rather than a hypertrophic myocardial response. *J Anat* 212, 286–294. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2008.00853.x>
- Leu, M., Ehler, E., Perriard, J.C., 2001. Characterisation of postnatal growth of the murine heart. *Anat. Embryol.* 204, 217–224.
- Levy, A.P., Levy, N.S., Loscalzo, J., Calderone, A., Takahashi, N., Yeo, K.T., Koren, G., Colucci, W.S., Goldberg, M.A., 1995. Regulation of vascular endothelial growth factor in cardiac myocytes. *Circ. Res.* 76, 758–766.
- Li, F., McNelis, M.R., Lustig, K., Gerdes, A.M., 1997. Hyperplasia and hypertrophy of chicken cardiac myocytes during posthatching development. *Am. J. Physiol.* 273, R518–526.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1997.273.2.R518>
- Li, F., Wang, X., Capasso, J.M., Gerdes, A.M., 1996. Rapid transition of cardiac myocytes from hyperplasia to hypertrophy during postnatal development. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 28, 1737–1746.
<https://doi.org/10.1006/jmcc.1996.0163>
- Liao, H.S., Kang, P.M., Nagashima, H., Yamasaki, N., Usheva, A., Ding, B., Lorell, B.H., Izumo, S., 2001. Cardiac-specific overexpression of cyclin-dependent kinase 2 increases smaller mononuclear cardiomyocytes. *Circ. Res.* 88, 443–450.
- Lorell, B.H., 1995. Cardiac renin-angiotensin system: role in development of pressure-overload hypertrophy. *Can J Cardiol* 11 Suppl F, 7F–12F.
- Lu, X., Choy, J.S., Zhang, Z., Wassall, C.D., Guo, X., Kemple, M.D., Kassab, G.S., 2013. Effects of local mechanical stimulation on coronary artery endothelial function and angiotensin II type 1 receptor in pressure or flow-overload. *J. Hypertens.* 31, 720–729.
<https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e32835d6d2c>
- Ma, Z.-G., Yuan, Y.-P., Wu, H.-M., Zhang, X., Tang, Q.-Z., 2018. Cardiac fibrosis: new insights into the pathogenesis. *Int. J. Biol. Sci.* 14, 1645–1657. <https://doi.org/10.7150/ijbs.28103>
- Maack, C., O'Rourke, B., 2007. Excitation-contraction coupling and mitochondrial energetics. *Basic Res Cardiol* 102, 369–392. <https://doi.org/10.1007/s00395-007-0666-z>
- Mann, D.L., 2003. Stress-activated cytokines and the heart: from adaptation to maladaptation. *Annu. Rev. Physiol.* 65, 81–101. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.65.092101.142249>
- Marantz, P., Grinenco, S., 2015. Fetal intervention for critical aortic stenosis: advances, research and postnatal follow-up. *Curr. Opin. Cardiol.* 30, 89–94.
<https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000000128>
- Messerli, F.H., 1982. Cardiovascular effects of obesity and hypertension. *Lancet* 1, 1165–1168.
- Midgett, M., Rugonyi, S., 2014. Congenital heart malformations induced by hemodynamic altering surgical interventions. *Front Physiol* 5. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00287>
- Mielke, G., Benda, N., 2001. Cardiac output and central distribution of blood flow in the human fetus. *Circulation* 103, 1662–1668.
- Moodie, D.S., 2002. Adult Congenital Heart Disease. *Ochsner J* 4, 221–226.
- Murphy, M.P., 2009. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J* 417, 1–13.
<https://doi.org/10.1042/BJ20081386>

- Mutlak, M., Schlesinger-Laufer, M., Haas, T., Shofti, R., Ballan, N., Lewis, Y.E., Zuler, M., Zohar, Y., Caspi, L.H., Kehat, I., 2018. Extracellular signal-regulated kinase (ERK) activation preserves cardiac function in pressure overload induced hypertrophy. *International Journal of Cardiology* 270, 204–213. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.05.068>
- Mutluer, F.O., Çeliker, A., 2018. General Concepts in Adult Congenital Heart Disease. *Balkan Med J* 35, 18–29. <https://doi.org/10.4274/balkanmedj.2017.0910>
- Nadruz, W., 2015. Myocardial remodeling in hypertension. *J Hum Hypertens* 29, 1–6. <https://doi.org/10.1038/jhh.2014.36>
- Naidu, P., Grigg, L., Zentner, D., 2017. Mortality in adults with congenital heart disease. *Int. J. Cardiol.* 245, 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.05.132>
- Norton, G.R., Woodiwiss, A.J., Gaasch, W.H., Mela, T., Chung, E.S., Aurigemma, G.P., Meyer, T.E., 2002. Heart failure in pressure overload hypertrophy: The relative roles of ventricular remodeling and myocardial dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology* 39, 664–671. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(01\)01792-2](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01792-2)
- Nuntnarumit, P., Yang, W., Bada-Ellzey, H.S., 1999. Blood Pressure Measurements in the Newborn. *Clinics in Perinatology* 26, 981–996. [https://doi.org/10.1016/S0095-5108\(18\)30030-7](https://doi.org/10.1016/S0095-5108(18)30030-7)
- Ošťádal, B., Vízek, M., 2003. Patologická fyziologie srdce a cév. Karolinum, Praha.
- Oster, M.E., Lee, K.A., Honein, M.A., Riehle-Colarusso, T., Shin, M., Correa, A., 2013. Temporal trends in survival among infants with critical congenital heart defects. *Pediatrics* 131, e1502–1508. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-3435>
- Paradis, A.N., Gay, M.S., Zhang, L., 2014. Binucleation of cardiomyocytes: the transition from a proliferative to a terminally differentiated state. *Drug Discov Today* 19, 602–609. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.10.019>
- Pathirana, J., Muñoz, F.M., Abbing-Karahagopian, V., Bhat, N., Harris, T., Kapoor, A., Keene, D.L., Mangili, A., Padula, M.A., Pande, S.L., Pool, V., Pourmalek, F., Varricchio, F., Kochhar, S., Cutland, C.L., 2016. Neonatal death: Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunization safety data. *Vaccine* 34, 6027–6037. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2016.03.040>
- Periasamy, M., Kalyanasundaram, A., 2007. SERCA pump isoforms: their role in calcium transport and disease. *Muscle Nerve* 35, 430–442. <https://doi.org/10.1002/mus.20745>
- Pesevski, Z., Sedmera, D., 2013. Prenatal Adaptations to Overload, in: Ostadal, B., Dhalla, N.S. (Eds.), *Cardiac Adaptations: Molecular Mechanisms, Advances in Biochemistry in Health and Disease*. Springer New York, New York, NY, pp. 41–57. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5203-4_3
- Poolman, R.A., Brooks, G., 1998. Expressions and Activities of Cell Cycle Regulatory Molecules During the Transition from Myocyte Hyperplasia to Hypertrophy. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 30, 2121–2135. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1998.0808>
- Porrello, E.R., Mahmoud, A.I., Simpson, E., Hill, J.A., Richardson, J.A., Olson, E.N., Sadek, H.A., 2011. Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. *Science* 331, 1078–1080. <https://doi.org/10.1126/science.1200708>
- Rajapakse, N.W., Johnston, T., Kiriazis, H., Chin-Dusting, J.P., Du, X.-J., Kaye, D.M., 2015. Augmented endothelial l-arginine transport ameliorates pressure-overload-induced cardiac hypertrophy. *Exp. Physiol.* 100, 796–804. <https://doi.org/10.1113/EP085250>
- Rajput, F.A., Zeltser, R., 2018. Aortic Valve Replacement, in: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Reckova, M., Rosengarten, C., deAlmeida, A., Stanley, C.P., Wessels, A., Gourdie, R.G., Thompson, R.P., Sedmera, D., 2003. Hemodynamics is a key epigenetic factor in development of the cardiac conduction system. *Circ. Res.* 93, 77–85. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000079488.91342.B7>

- Reynisdóttir, I., Polyak, K., Iavarone, A., Massagué, J., 1995. Kip/Cip and Ink4 Cdk inhibitors cooperate to induce cell cycle arrest in response to TGF-beta. *Genes Dev.* 9, 1831–1845. <https://doi.org/10.1101/gad.9.15.1831>
- Richmond, S., Wren, C., 2001. Early diagnosis of congenital heart disease. *Semin Neonatol* 6, 27–35. <https://doi.org/10.1053/siny.2000.0028>
- Rodriguez-Porcel, M., Zhu, X.-Y., Chade, A.R., Amores-Arriaga, B., Caplice, N.M., Ritman, E.L., Lerman, A., Lerman, L.O., 2006. Functional and structural remodeling of the myocardial microvasculature in early experimental hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290, H978–H984. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00538.2005>
- Rudolph, A.M., 1970. The changes in the circulation after birth. Their importance in congenital heart disease. *Circulation* 41, 343–359.
- Salceda, S., Caro, J., 1997. Hypoxia-inducible Factor 1 α (HIF-1 α) Protein Is Rapidly Degraded by the Ubiquitin-Proteasome System under Normoxic Conditions ITS STABILIZATION BY HYPOXIA DEPENDS ON REDOX-INDUCED CHANGES. *J. Biol. Chem.* 272, 22642–22647. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.36.22642>
- Salman, I.M., 2015. Cardiovascular Autonomic Dysfunction in Chronic Kidney Disease: a Comprehensive Review. *Curr. Hypertens. Rep.* 17, 59. <https://doi.org/10.1007/s11906-015-0571-z>
- Šamánek, M., Voříšková, M., 1999. Congenital heart disease among 815,569 children born between 1980 and 1990 and their 15-year survival: a prospective Bohemia survival study. *Pediatr Cardiol* 20, 411–417. <https://doi.org/10.1007/s002469900502>
- Šaňková, B., Machálek, J., Sedmera, D., 2010. Effects of mechanical loading on early conduction system differentiation in the chick. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 298, H1571–1576. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00721.2009>
- Sayer, G., Bhat, G., 2014. The renin-angiotensin-aldosterone system and heart failure. *Cardiol Clin* 32, 21–32, vii. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2013.09.002>
- Sedmera, D., Thompson, R.P., Kolář, F., 2003. Effect of increased pressure loading on heart growth in neonatal rats. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 35, 301–309.
- Sedmera, Pexieder, T., Rychterova, V., Hu, N., Clark, E.B., 1999. Remodeling of chick embryonic ventricular myoarchitecture under experimentally changed loading conditions. *Anat. Rec.* 254, 238–252. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(19990201\)254:2<238::AID-AR10>3.0.CO;2-V](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(19990201)254:2<238::AID-AR10>3.0.CO;2-V)
- Senyo, S.E., Lee, R.T., Kühn, B., 2014. Cardiac regeneration based on mechanisms of cardiomyocyte proliferation and differentiation. *Stem Cell Res* 13, 532–541. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2014.09.003>
- Sidebotham, D., Le Grice, I.J., 2007. Chapter 1 - Physiology and Pathophysiology, in: Sidebotham, D., Mckee, A., Gillham, M., Levy, J.H. (Eds.), *Cardiothoracic Critical Care*. Butterworth-Heinemann, Philadelphia, pp. 3–27. <https://doi.org/10.1016/B978-075067572-7.50004-7>
- Siwik, D.A., Pagano, P.J., Colucci, W.S., 2001. Oxidative stress regulates collagen synthesis and matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts. *Am. J. Physiol., Cell Physiol.* 280, C53–60. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.280.1.C53>
- Spicer, D.E., Hsu, H.H., Co-Vu, J., Anderson, R.H., Fricker, F.J., 2014. Ventricular septal defect. *Orphanet J Rare Dis* 9. <https://doi.org/10.1186/s13023-014-0144-2>
- Sugimoto, M., Ota, K., Kajihama, A., Nakau, K., Manabe, H., Kajino, H., 2011. Volume overload and pressure overload due to left-to-right shunt-induced myocardial injury. - Evaluation using a highly sensitive cardiac Troponin-I assay in children with congenital heart disease-. *Circ. J.* 75, 2213–2219.
- Tarazi, R.C., Levy, M.N., 1982. Cardiac responses to increased afterload. State-of-the-art review. *Hypertension* 4, 8–18.
- Thakkar, A.N., Chinnadurai, P., Lin, C.H., 2017. Imaging adult patients with coarctation of the aorta. *Curr. Opin. Cardiol.* 32, 503–512. <https://doi.org/10.1097/HCO.0000000000000430>

- Tomanek, R.J., Hu, N., Phan, B., Clark, E.B., 1999. Rate of coronary vascularization during embryonic chicken development is influenced by the rate of myocardial growth. *Cardiovasc Res* 41, 663–671. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(98\)00330-7](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(98)00330-7)
- Torok, R.D., Campbell, M.J., Fleming, G.A., Hill, K.D., 2015. Coarctation of the aorta: Management from infancy to adulthood. *World J Cardiol* 7, 765–775. <https://doi.org/10.4330/wjc.v7.i11.765>
- Toure, A., Cabo, C., 2010. Effect of cell geometry on conduction velocity in a subcellular model of myocardium. *IEEE Trans Biomed Eng* 57, 2107–2114. <https://doi.org/10.1109/TBME.2010.2050064>
- van den Hoven, A.T., Roos-Hesselink, J.W., 2017. Aortic Coarctation, in: Niwa, K., Kaemmerer, H. (Eds.), *Aortopathy*. Springer Japan, Tokyo, pp. 257–275. https://doi.org/10.1007/978-4-431-56071-5_16
- van Eif, V.W.W., Devalla, H.D., Boink, G.J.J., Christoffels, V.M., 2018. Transcriptional regulation of the cardiac conduction system. *Nat Rev Cardiol* 15, 617–630. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0031-y>
- Vandamme, T.F., 2014. Use of rodents as models of human diseases. *J Pharm Bioallied Sci* 6, 2–9. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.124301>
- Verdejo, H.E., del Campo, A., Troncoso, R., Gutierrez, T., Toro, B., Quiroga, C., Pedrozo, Z., Munoz, J.P., Garcia, L., Castro, P.F., Lavandero, S., 2012. Mitochondria, myocardial remodeling, and cardiovascular disease. *Curr. Hypertens. Rep.* 14, 532–539. <https://doi.org/10.1007/s11906-012-0305-4>
- Verheule, S., Kaese, S., 2013. Connexin diversity in the heart: insights from transgenic mouse models. *Front Pharmacol* 4. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00081>
- Vivien, C.J., Hudson, J.E., Porrello, E.R., 2016. Evolution, comparative biology and ontogeny of vertebrate heart regeneration. *NPJ Regen Med* 1, 16012. <https://doi.org/10.1038/npjregenmed.2016.12>
- Vrancken, S.L., van Heijst, A.F., de Boode, W.P., 2018. Neonatal Hemodynamics: From Developmental Physiology to Comprehensive Monitoring. *Front Pediatr* 6. <https://doi.org/10.3389/fped.2018.00087>
- Walton, K.L., Johnson, K.E., Harrison, C.A., 2017. Targeting TGF- β Mediated SMAD Signaling for the Prevention of Fibrosis. *Front Pharmacol* 8. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00461>
- Weber, K.T., Sun, Y., Bhattacharya, S.K., Ahokas, R.A., Gerling, I.C., 2013. Myofibroblast-mediated mechanisms of pathological remodelling of the heart. *Nat Rev Cardiol* 10, 15–26. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2012.158>
- Wynn, T.A., 2008. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *The Journal of Pathology* 214, 199–210. <https://doi.org/10.1002/path.2277>
- Xie, D., Fang, J., Liu, Z., Wang, H., Yang, T., Sun, Z., Wang, A., Xiong, L., 2018. Epidemiology and major subtypes of congenital heart defects in Hunan Province, China. *Medicine (Baltimore)* 97. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000011770>
- Yabrodi, M., Mastropietro, C.W., 2017. Hypoplastic left heart syndrome: from comfort care to long-term survival. *Pediatr Res* 81, 142–149. <https://doi.org/10.1038/pr.2016.194>
- Yamada, K.A., Rogers, J.G., Sundset, R., Steinberg, T.H., Saffitz, J.E., 2003. Up-Regulation of Connexin45 in Heart Failure. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology* 14, 1205–1212. <https://doi.org/10.1046/j.1540-8167.2003.03276.x>
- Yan, N., He, Y., Wen, H., Lai, F., Yin, D., Cui, H., 2018. A Suzuki-Miyaura method for labelling proliferating cells containing incorporated BrdU. *Analyst* 143, 1224–1233. <https://doi.org/10.1039/c7an01934c>
- Zeisberg, E.M., Tarnavski, O., Zeisberg, M., Dorfman, A.L., McMullen, J.R., Gustafsson, E., Chandraker, A., Yuan, X., Pu, W.T., Roberts, A.B., Neilson, E.G., Sayegh, M.H., Izumo, S., Kalluri, R., 2007. Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. *Nat. Med.* 13, 952–961. <https://doi.org/10.1038/nm1613>

- Želízko, M., Janek, B., Hrnčárek, M., Malý, J., Netuka, I., Barčiaková, L., 2016. Aortální stenóza a nové indikace katetrizační implantace aortální chlopně. *Intervenční a akutní kardiologie* 15, 19–25.
- Zhong, W., Mao, S., Tobis, S., Angelis, E., Jordan, M.C., Roos, K.P., Fishbein, M.C., de Alborán, I.M., MacLellan, W.R., 2006. Hypertrophic growth in cardiac myocytes is mediated by Myc through a Cyclin D2-dependent pathway. *EMBO J* 25, 3869–3879. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601252>
- Zhou, Y.-Q., Foster, F.S., Parkes, R., Adamson, S.L., 2003. Developmental changes in left and right ventricular diastolic filling patterns in mice. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 285, H1563–1575. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00384.2003>
- Zhu, W., Zhang, E., Zhao, M., Chong, Z., Fan, C., Tang, Y., Hunter, J.D., Borovjagin, A.V., Walcott, G.P., Chen, J.Y., Qin, G., Zhang, J., 2018. Regenerative Potential of Neonatal Porcine Hearts. *Circulation* 138, 2809–2816. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.034886>
- Zimna, A., Kurpisz, M., 2015. Hypoxia-Inducible Factor-1 in Physiological and Pathophysiological Angiogenesis: Applications and Therapies. *Biomed Res Int* 2015, 549412. <https://doi.org/10.1155/2015/549412>
- Zubrow, A.B., Hulman, S., Kushner, H., Falkner, B., 1995. Determinants of blood pressure in infants admitted to neonatal intensive care units: a prospective multicenter study. Philadelphia Neonatal Blood Pressure Study Group. *J Perinatol* 15, 470–479.